República Bolivariana de Venezuela
Universidad de Los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Química

Trabajo Especial de Grado

ESTUDIO EXPLORATORIO PARA LA EVALUACIÓN DE ESPECIES ÁCIDAS ORGÁNICAS PRESENTES EN EL CRUDO CARABOBO DE LA FAJA PETROLÍFERA DEL ORINOCO (I)

www.bdigital.ula.ve

Estudiante TEG: Elvis Anzoni Araque Moreno
Tutor externo: María Daniela Jaimes Parra (PDVSA-Intevep)
Tutor Académico: Fernando Bellandi (ULA)

Mérida, Octubre 2016

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO I

ÍNDICE DE FIGURAS III

ÍNDICE DE TABLAS IV

1. INTRODUCCIÓN 1

2. MARCO TEÓRICO 3

2.1 PETRÓLEO. 3

2.1.1 GENERALIDADES 3
2.1.2 CLASIFICACIÓN DEL PETRÓLEO SEGÚN SU DENSIDAD Y GRADOS API 4
2.1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PETRÓLEO 6
PARAFINAS. 6
NAFTENOS. 6
AROMÁTICOS. 6
RESINAS 7
ASFALTENOS. 7
OTROS COMPUESTOS EN EL CRUDO 8

2.2 ÁCIDOS EN EL CRUDO 10

2.2.1 IMPORTANCIA DE LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS EN EL CRUDO 13
2.2.2 MEDICIÓN DE LA ACIDEZ EN EL CRUDO 15

2.3 TRATAMIENTO DE MUESTRAS DE CRUDO 15

2.3.1 SEPARACIÓN SARA 16
2.3.2 EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO 17
ANTECEDENTES 17
2.3.3 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO 19
ANTECEDENTES 19
2.3.4 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA 19
ETAPAS DE LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA 21
ANTECEDENTES 22

2.4 FUNDAMENTOS DE CROMATOGRAFÍA 23

2.4.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES 27

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

ANTECEDENTES 32
2.4.2 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN 33
ANTECEDENTES 38

3. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN 40

3.1 HIPÓTESIS 40

4. OBJETIVOS 40

4.1 OBJETIVO GENERAL 40

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 40

5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL 40

5.1 SOLVENTES Y REACTIVOS 40

5.2 MATERIALES Y EQUIPOS 41

5.2.1 EQUIPO DE EXTRACCIÓN SOXHLET. 41
5.2.2 EQUIPO DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA. 42
5.2.3 GC-MS MARCA AGILENT TECHNOLOGIES MODELO 6890N-5973INERT. 42
5.2.4 HPLC MARCA AGILENT TECHNOLOGIES MODELO 1200 SERIES. 43
5.3 MUESTRAS 44
5.4 PLAN DE TRABAJO 44
5.4.1 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS 45
5.4.2 SEPARACIÓN DE LAS FRACCIONES SATURADOS, AROMÁTICOS, RESINAS Y ASFALTENOS DE LOS CRUDOS DE LA FPO 46
5.4.3 SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS PARA EL CRUDO CARABOBO. 48
MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS A TRAVÉS DE LA EXTRACCIÓN SOXHLET 48
MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS A TRAVÉS DE SPE 49
5.4.4 IDENTIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS EMPLEANDO GC-MS 50

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 52

6.1 CARACTERIZACIÓN DEL CRUDO **52**

6.2 EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS 54

6.2.1 EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EMPLEANDO EXTRACCIÓN SOXHLET 54
6.2.2 MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EMPLEANDO SPE 57
6.2.3 PRECISIÓN DEL MÉTODO DE SPE 62
6.3.4 DISEÑO DE UNA METODOLOGÍA HPLC PARA LA SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS 67

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

7. CONCLUSIONES **77**

8. RECOMENDACIONES **78**

9. APÉNDICE **79**

6.1 CURVAS DE CALIBRACIÓN POR GC-MS 79
6.1.1 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL ÁCIDO OCTANOICO 79
6.1.2 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL ÁCIDO BENZOICO 80
6.1.3 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL FENOL 82
6.1.4 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL 2-QUINOLINETHIOL 83

10. BIBLIOGRAFÍA **86**

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FAJA PETROLÍFERA DEL ORINOCO 5
FIGURA 2. RESERVAS DEL PETRÓLEO GLOBALES (MMMBLS) 6
FIGURA 3. EJEMPLO DE ESTRUCTURA MOLECULAR DE UNA RESINA EN EL CRUDO 7
FIGURA 4. MOLÉCULA HIPOTÉTICA DE UN ASFALTENO EN EL CRUDO (ESTRUCTURA MODELO) 7
FIGURA 5. ALGUNOS COMPUESTOS AZUFRADOS PRESENTES EN EL CRUDO 8
FIGURA 6. COMPUESTOS OXIGENADOS PRESENTES EN EL PETRÓLEO 9
FIGURA 7. COMPUESTOS NITROGENADOS PRESENTES EN EL CRUDO 9
FIGURA 8.MODELO MOLECULAR DE PORFIRINAS DE NÍQUEL Y VANADIO CONTENIDAS EN CRUDO 10
FIGURA 9. MODELO MOLECULAR DE ESTRUCTURAS NO PORFIRÍNICAS CONTENIDAS EN CRUDOS 10
FIGURA 10. MOLÉCULA DE UN SURFACTANTE EN UN SISTEMA ACEITE/AGUA 13
FIGURA 11. DEPÓSITOS DE NAFTENATOS EN SISTEMAS DESALADORES 14
FIGURA 12. INCREMENTO DE LA INVESTIGACIÓN DE LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS PRESENTES EN EL CRUDO 15
FIGURA 13. SEPARACIÓN DEL PETRÓLEO MEDIANTE FRACCIONAMIENTO SARA 16
FIGURA 14. AMINA CUATERNARIA (TRIETILAMINO-PROPIL) EMPLEADA COMO SORBENTE DE INTERCAMBIO ANIÓNICO 20
FIGURA 15. SPE PARA LA PURIFICACIÓN DEL EXTRACTO (LAS) EN UN CARTUCHO CONTENIENDO UNA SAL DE AMONIO CUATERNARIA (SAX) 21
FIGURA 16. CROMATOGRAMA DE UNA MEZCLA DE DOS COMPONENTES 24
FIGURA 17. PROCESOS DE ENSANCHAMIENTO DE BANDA EN LA COLUMNA CROMATOGRÁFICA 27
FIGURA 18. DIAGRAMA DE UN CROMATÓGRAFO DE GASES 28
FIGURA 19. PUERTO DE INYECCIÓN 29
FIGURA 20. ESQUEMA GENERAL DE UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS 32
FIGURA 21. DIAGRAMA TRIANGULAR DESARROLLADO POR SNYDER 35
FIGURA 22. GRUPOS SILANOL EMPLEADOS COMO FASE ESTACIONARIA EN LA CROMATOGRAFÍA DE ADSORCIÓN 36
FIGURA 23. CROMATOGRAMA OBTENIDO POR A.E BORGUND Y COL 39
FIGURA 24. SISTEMA DE EXTRACCIÓN SOXHLET 42
FIGURA 25. EQUIPO PARA SPE 42
FIGURA 26. CROMATÓGRAFO DE GASES AGILENT 6890N CON DETECTOR SELECTIVO DE MASAS 5973INERT 43
FIGURA 27. CROMATÓGRAFO AGILENT HPLC 1200 44
FIGURA 28. EQUIPO UTILIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE NÚMERO ÁCIDO 45

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

FIGURA 29. EQUIPO HPLC AGILENT TECHNOLOGIES SERIES 1200 47
FIGURA 30. DIFERENTES MÉTODOS EMPLEADOS PARA LA EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS EN EL CRUDO 54
FIGURA 31. INTERACCIONES DE LA RESINA SAX CON LOS DIFERENTES ÁCIDOS ORGÁNICOS EN ESTUDIO 61
FIGURA 32. MÉTODO ESCOGIDO COMO TRATAMIENTO DE MUESTRA (SPE) 62
FIGURA 33. ESPECTRO INFRARROJO DEL EXTRACTO ÁCIDO DEL CRUDO CARABOBO 66
FIGURA 34. ESPECTRO INFRARROJO DEL ÁCIDO NAFTÉNICO COMERCIAL (FLUKA) 66
FIGURA 35. CROMATOGRAMA DEL ÁCIDO BENZOICO POR HPLC 68
FIGURA 36. CROMATOGRAMA DEL ÁCIDO NAFTOICO POR HPLC 69
FIGURA 37. CROMATOGRAMA DEL ÁCIDO UNDECANOICO POR HPLC 69
FIGURA 38. CROMATOGRAMA DEL FENOL POR HPLC 69
FIGURA 39. CROMATOGRAMA DEL NAFTALENO POR HPLC 70
FIGURA 40. CROMATROGRAMA DEL ÁCIDO BENZOICO 71
FIGURA 41. CROMATOGRAMA DEL ÁCIDO HEPTANOICO 72
FIGURA 42. CROMATOGRAMA DEL ÁCIDO NAFTOICO 72
FIGURA 43. CROMATOGRAMA DEL ANTRACENO 73
FIGURA 44. CROMATOGRAMA DEL FENOL 73
FIGURA 45. CROMATOGRAMA DEL NAFTOL 74
FIGURA 46. CROMATOGRAMA DE LA MEZCLA DE ÁCIDOS ORGÁNICOS POR HPLC 75
FIGURA 47. ZONAS DE SEPARACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS POR HPLC 76
FIGURA 48. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO 80
FIGURA 49. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO BENZOICO 81
FIGURA 50. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL FENOL 83
FIGURA 51. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL 2-QUINOLINETHIOL 84

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE LOS TIPOS DE CRUDO DE ACUERDO A LOS GRADOS API 4
TABLA 2. ALGUNOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS IDENTIFICADOS EN EL CRUDO 11
TABLA 3. ALGUNOS TIOLES IDENTIFICADOS EN EL CRUDO 11
TABLA 4. ALGUNOS COMPUESTOS HIDROXILOS IDENTIFICADOS EN EL CRUDO 12
TABLA 5. ALGUNOS ÁCIDOS MULTIFUNCIONALES IDENTIFICADOS EN EL CRUDO 12
TABLA 6. CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS. 23
TABLA 7: CONDICIONES DEL GC-MS EMPLEADO POR YAHE ZHANG Y COL EN SU INVESTIGACIÓN 33
TABLA 8. PROPIEDADES DE LAS FASES MÓVILES MÁS COMUNES. 34
TABLA 9. PROGRAMA DE ELUCIÓN EN GRADIENTE DISEÑADO POR A.E BORGUND Y COLABORADORES. 39
TABLA 10. SOLVENTES Y REACTIVOS EMPLEADOS 41
TABLA 11. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LOS PATRONES POR GC-MS. 51
TABLA 12. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS POR HPLC 52
TABLA 13. NÚMERO TOTAL DE ACIDO (TAN) Y DENSIDAD DE GRADOS API PARA LOS CRUDOS DE LA FPO 53
TABLA 14. RESULTADOS DE LAS FRACCIONES SARA DE LOS CRUDOS EN ESTUDIO 53
TABLA 15. EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO EXTRACCIÓN SOXHLET 55
TABLA 16. EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO EN UNA MEZCLA DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO EXTRACCIÓN SOXHLET 56
TABLA 17. EXTRACCIÓN DEL FENOL EN UNA MEZCLA DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO EXTRACCIÓN SOXHLET 56
TABLA 18. EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO SPE 57

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

TABLA 19. EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO EN DIESEL ASTM-2000 EMPLEANDO SPE 58
TABLA 20. EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO SPE (4% DE HCOOH) 59
TABLA 21. EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO BENZOICO EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO SPE (4% DE HCOOH) 59
TABLA 22. EXTRACCIÓN DEL 2-QUINOLINETHIOL EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO SPE (4% DE HCOOH) 60
TABLA 23. EXTRACCIÓN DEL FENOL EN MATRIZ SINTÉTICA EMPLEANDO SPE (4% DE HCOOH) 60
TABLA 24. PRECISIÓN DEL MÉTODO SPE BAJO CONDICIONES DE REPETIBILIDAD EMPLEANDO EL CRUDO DEL CAMPO CARABOBO 63
TABLA 25. CONTINUACIÓN. PRECISIÓN DEL MÉTODO BAJO CONDICIONES DE REPETIBILIDAD EMPLEANDO EL CRUDO DEL CAMPO CARABOBO 64
TABLA 26. PRECISIÓN DEL MÉTODO SPE BAJO CONDICIONES DE REPRODUCIBILIDAD EMPLEANDO EL CRUDO DEL CAMPO CARABOBO 64
TABLA 27. LISTA DE COMPONENTES ENCONTRADOS EN LA FRACCIÓN ÁCIDA EXTRAÍDA DEL CRUDO CARABOBO MEDIANTE EL MÉTODO SPE DESARROLLADO, EMPLEANDO GC-MS 65
TABLA 28. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LOS PATRONES POR HPLC (CONDICIÓN 1) 68
TABLA 29. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA LOS PATRONES POR HPLC (CONDICIÓN 2) 71
TABLA 30. CONDICIONES DEL PROCESAMIENTO EN LA CUANTIFICACIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO 79
TABLA 31. DATOS DE LAS ÁREAS OBTENIDAS PARA LA ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO OCTANOICO 79
TABLA 32. AJUSTE DE LOS VALORES POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA EL ÁCIDO OCTANOICO 80
TABLA 33. CONDICIONES DEL PROCESAMIENTO EN LA CUANTIFICACIÓN DEL ÁCIDO BENZOICO 81
TABLA 34. DATOS DE LAS ÁREAS OBTENIDAS PARA LA ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO BENZOICO 81
TABLA 35. AJUSTE DE LOS VALORES POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA EL ÁCIDO BENZOICO 82
TABLA 36. CONDICIONES DEL PROCESAMIENTO EN LA CUANTIFICACIÓN DEL FENOL 82
TABLA 37. DATOS DE LAS ÁREAS OBTENIDAS PARA LA ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL FENOL 82
TABLA 38. AJUSTE DE LOS VALORES POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA EL FENOL 83
TABLA 39. CONDICIONES DEL PROCESAMIENTO EN LA CUANTIFICACIÓN DEL 2-QUINOLINETHIOL 84
TABLA 40. DATOS DE LAS ÁREAS OBTENIDAS PARA LA ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL 2-QUINOLINETHIOL 84
TABLA 41. AJUSTE DE LOS VALORES POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA EL 2-QUINOLINETHIOL 85

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

1. INTRODUCCIÓN

El incremento de la demanda mundial del petróleo y la disminución de los crudos convencionales durante los últimos años han motivado la investigación y el desarrollo de nuevas tecnologías para producir y mejorar los crudos pesados existentes. Venezuela posee la reserva de crudos pesados y extrapesados más grande del mundo según la Organización de Países Exportadores de Petróleo (OPEP)[1]; la mayoría de estos crudos se encuentran principalmente en la Faja Petrolífera del Orinoco (FPO) ubicada al Oriente del país. La economía Venezolana depende fuertemente de los ingresos petroleros y en ello se justifica el esfuerzo que actualmente se realiza para incrementar su producción y la calidad de los mismos.

El petróleo está constituido por una gran cantidad de compuestos, los cuales le aportan distintas propiedades y entre otras cosas, permiten evaluar su valor comercial y de procesamiento[2]. Una familia de compuestos considerada importante en el crudo corresponde a las especies ácidas orgánicas, ya que han representado un tema de estudio importante en los procesos de comercialización de crudo, en las refinerías y en otras instalaciones de la industria petrolera durante años. Esto se debe a que son los principales causantes de corrosión en las superficies metálicas de algunas estructuras[3], además son los responsables de la actividad interfacial agua/crudo produciendo emulsiones sumamente estables y en consecuencia difíciles de romper[4] y, adicionalmente, pueden formar depósitos pesados que bloquean tuberías y válvulas[5], entre otras razones[6].

www.bdigital.ula.ve

Actualmente, para medir la acidez de un crudo se utiliza una titulación por neutralización con hidróxido de potasio (KOH) denominado Número Total de Ácidos (TAN, por sus siglas en inglés, *Total Acid Number*). A partir de este valor, un crudo es considerado ácido cuando posee un TAN mayor a 0.5 mg de KOH por gramo de crudo, influyendo directamente en su comercialización y procesamiento. Sin embargo, según lo reportado en la literatura, la porción de especies ácidas en el crudo varía y los valores de TAN hoy en día no aportan suficiente información sobre su composición[3]. En consecuencia es necesario contar con metodologías de análisis más detalladas que permitan aportar información no sólo para su clasificación, sino para la comprensión de sus propiedades y comportamiento.

El área de desarrollo de métodos y el área de caracterización molecular empleando diferentes metodologías de separación han generado entre otras cosas, información útil en relación a la composición química de crudos pesados y extrapesados[7]. Así que, el uso de herramientas y

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

técnicas analíticas disponibles para llevar a cabo la caracterización de crudos, ha avanzado a lo largo del tiempo, la bibliografía reportada así lo demuestra[8]. Por ejemplo, las técnicas de separación cromatográfica y métodos de preparación de muestras como la extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés, *Solid Phase Extraction*), representan alternativas de gran aplicabilidad al momento de plantearse el desarrollo de un método para el fraccionamiento, identificación y cuantificación de especies orgánicas e inorgánicas en crudos extrapesados.

En este sentido, el presente trabajo plantea el desarrollo de un método de tratamiento de muestra que en conjunto con cromatografía de gases acoplada a un detector selectivo de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) permitan extraer y separar de forma químicamente selectiva especies ácidas orgánicas de una matriz compleja como es un crudo extrapesado, y de esta manera lograr la identificación de la mayor cantidad de especies ácidas orgánicas posibles. Para ello, se ensayarán técnicas como SPE y extracción Soxhlet como alternativas para aislar especies ácidas, en apoyo con otras técnicas instrumentales como espectrometría infrarroja y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés, *High Performance Liquid Chromatography*). El método se desarrollará empleando el crudo Carabobo perteneciente a la Faja Petrolífera del Orinoco, orientado bajo la premisa de que este valioso recurso constituye un aspecto importante para el impulso del desarrollo económico de la nación.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2. MARCO TEÓRICO

2.1 PETRÓLEO.

2.1.1 Generalidades

El petróleo es la sustancia más importante consumida por la sociedad moderna, su nombre deriva del latín *petro*(piedra) y *oleum*(aceite) o del griego *πετρέλαιον* de igual significado[9]. La industria petrolera moderna tuvo sus inicios en el año 1859 cuando comenzó la explotación comercial del primer pozo en Estados Unidos, desde entonces, este se ha convertido en la fuente de energía y de materia prima por excelencia[10].

El crudo en su estado natural ha sido definido como una mezcla inflamable constituido por una gran cantidad de hidrocarburos gaseosos, líquidos, semisólidos y sólidos. Adicionalmente, contiene moléculas con heteroátomos en su estructura como el Oxígeno (O), Azufre (S), Nitrógeno (N); de esa misma manera están presentes metales como Vanadio (V), Níquel (Ni), Hierro (Fe), Cobre (Cu) entre otros[11]. Sin embargo, las proporciones de estos elementos varían dentro de un intervalo relativamente estrecho, donde el contenido de carbono puede encontrarse desde un 83 hasta 87% en peso, el de hidrógeno entre 10 y 14%, los heteroátomos y metales se encuentra a menor concentración (menor al 6% en peso). Entre las características físicas se tiene que los crudos poseen una coloración variada, entre amarillo y pardo oscuro, hasta llegar a negro, además tiene un olor característico y su densidad comprende entre 0.75 y 0.95 g/mL[11].

A lo largo de los últimos años, se ha acumulado una valiosa y extensa información acerca de la formación y origen del petróleo, clasificándolo en dos grupos principales: *las teorías inorgánicas* que explican la formación del petróleo a través de reacciones netamente químicas, es decir, sin la intervención de agentes vegetales y/o animales; por otro lado se encuentran las *teorías orgánicas,* estas suponen que el petróleo es producto de la descomposición de residuos vegetales o de animales que existieron en ciertos periodos de tiempo geológico[11]. Esta última es la más aceptada, ya que señala que el petróleo es el resultado de un complejo proceso físico-químico en el interior de la tierra en el que se produce, debido a la presión y las altas temperaturas, en donde la descomposición de enormes cantidades de materia orgánica que se convierten en aceite y gas. Entre los geólogos hay quienes ubican el inicio de todo ese proceso en la época de los dinosaurios y los cataclismos y que hoy en día se está formando de una manera similar el petróleo del mañana[12].

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.1.2 Clasificación del petróleo según su densidad y grados API

La clasificación del petróleo según la densidad y grados API es una de las formas empleadas internacionalmente en la industria petrolera para la catalogación y establecimiento de diferenciales de precios del crudo, considerando también otros factores como el contenido de azufre, metales, sal, corrosividad entre otros[13]. La gravedad API es una escala normalizada por el Instituto Americano del Petróleo (API, por sus siglas en inglés, *American Petroleum Institute*), describe que tan pesado o liviano es el petróleo en base a su densidad, esta se evalúa mediante la siguiente ecuación[9]:

$$Grados\ API = \frac{141{,}5}{Densidad\ relativa} - 131{,}5 \tag{1.1}$$

Donde la densidad relativa de la fórmula anterior corresponde a:

$$Densidad\ relativa = \frac{Densidad\ del\ líquido}{Densidad\ del\ agua}\ (a\ 60\ F) \tag{1.2}$$

www.bdigital.ula.ve

De acuerdo a los grados API, el crudo puede ser clasificado en diferentes tipos tal y como se muestra en la Tabla 1. Los valores reflejados en esta tabla indican que a mayor grado API el crudo es más liviano.

Tabla 1. Clasificación de los tipos de crudo de acuerdo a los grados API[14]

Petróleo	Densidad (g/mL)	Grados API
Extrapesado	≥ 1,0	≤10,0
Pesado	0,92 - 1,01	10,1 - 22,3
Mediano	0,87 - 0,91	22,4 - 31,1
Liviano	0,83 - 0,86	31,2 - 39,0

Los crudos livianos y medianos son ricos en fracciones ligeras de hidrocarburos es por esto que son los crudos de mayor interés comercial, ya que, son fáciles de procesar para la elaboración de combustibles de alta calidad. Con el declive de las reservas de crudos livianos, las compañías petroleras se han visto en la necesidad de explotar los yacimientos de crudo del tipo pesado y extrapesado con el propósito de sustentar las necesidades energéticas que van en aumento. Sin

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

embargo, estos crudos no pueden ser procesados de igual manera que los crudos livianos ya que poseen mayor cantidad de contaminantes, lo cual implica altas inversiones para poder obtener productos refinados que cumplan con los estándares internacionales de calidad[9].

A nivel mundial, las reservas de crudo liviano y mediano se encuentran en menor proporción en comparación con los crudos pesados y extrapesados[14]. En Venezuela, la mayor cantidad de crudos existentes son del tipo pesado y extrapesado, estos se encuentran en la Faja Petrolífera del Orinoco ubicados geográficamente a orillas del río Orinoco y enmarcada en los estados Monagas, Guárico y Anzoátegui completando un área geográfica de 55 mil kilómetros cuadrados divididos en cuatro grandes áreas, llamados (de oeste a este): Boyacá, Junín, Ayacucho y Carabobo. En la Figura 1 se observa el mapa de la región que comprende a la FPO[15].

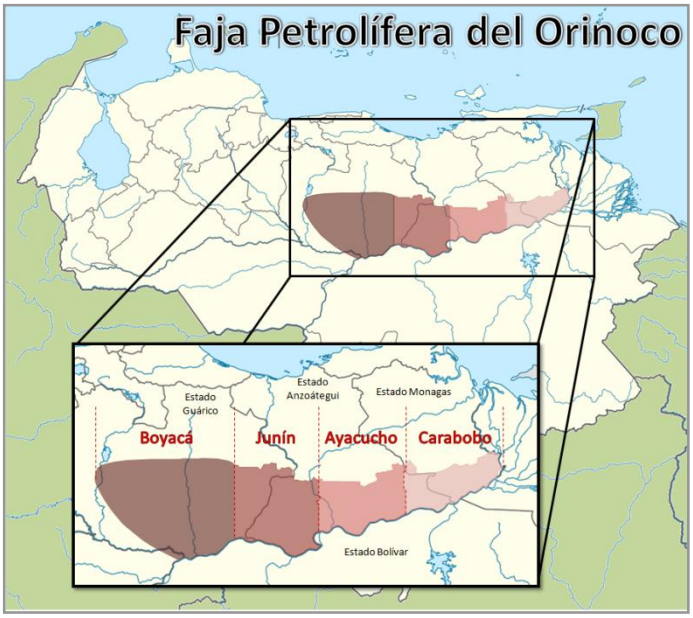


Figura 1. Faja Petrolífera del Orinoco[15]

Venezuela es un país petrolero, el proyecto conocido como Magna reserva, el cual dirige Petróleos de Venezuela (PDVSA) ha logrado la cuantificación y la certificación de las reservas de petróleo existentes en la Faja petrolífera del Orinoco, determinando que los mismos ascienden a 299.000 millones de barriles de petróleo[16], ocupando el primer lugar con mayores reservas de hidrocarburos líquidos en el mundo (Ver Figura 2).

www.[illegible]la.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

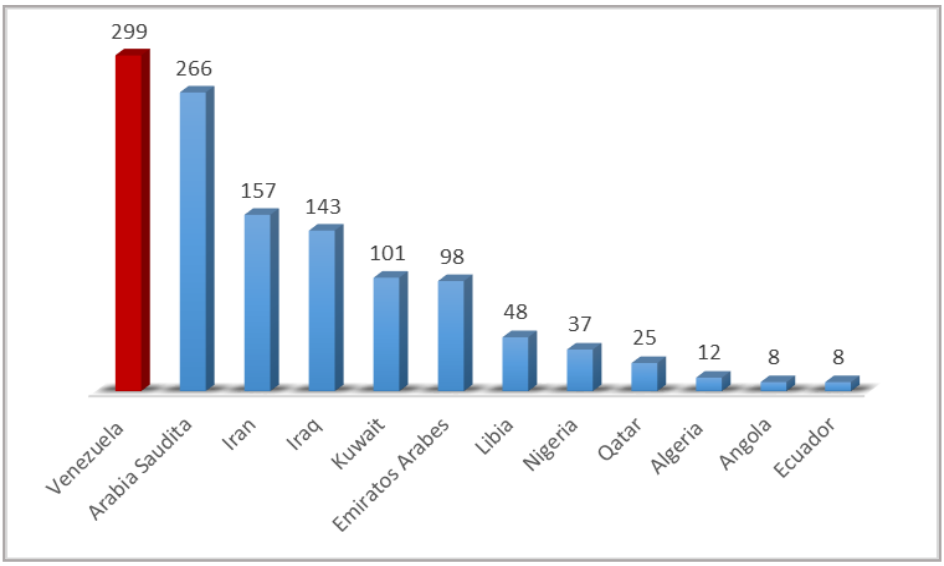


Figura 2. Reservas del Petróleo globales (MMMBls)[1]

2.1.3 Composición química del petróleo

www.bdigital.ula.ve

En el petróleo se encuentran una gran cantidad de hidrocarburos y de heteroátomos en distintas proporciones, haciendo de este una mezcla compleja de compuestos orgánicos e inorgánicos de estructura variada y de pesos moleculares diferentes[17], por consiguiente, dependiendo del número de átomos de carbono y de la estructura de los mismos, presentarán diferentes propiedades que determinan su comportamiento y uso como: Combustibles, lubricantes, ceras o solventes[14]. Dentro de los tipos de hidrocarburos que pueden estar presentes en el crudo se tienen:

Parafinas. Son moléculas orgánicas formadas únicamente por átomos de carbono e hidrógeno de cadenas lineales (parafinas) o ramificadas (isoparafinas), que no poseen en su estructura grupos funcionales y anillos[11].

Naftenos. Son hidrocarburos saturados que contienen uno o más anillos, en donde predominan los naftenos de un solo anillo (parafinas monocíclicas) con 5 y 6 átomos de carbono y los naftenos de dos anillos (parafinas dicíclicas). Algunas estructuras nafténicas contienen cadenas parafínicas[11].

Aromáticos. Son moléculas orgánicas formadas estructuralmente por átomos de carbono e hidrógeno unidos de manera cíclica y con dobles enlaces conjugados. La mayoría de estos

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

anillos contienen cadenas parafínicas, anillos nafténicos, o incluso anillos aromáticos que son más complejos formando aromáticos polinucleares (tres o más anillos aromáticos fusionados)[11].

Resinas. Las resinas son componentes no volátiles constituidos por anillos polinucleares condensados que contienen cadenas alifáticas cortas, naftenos y heteroátomos (Ver Figura 3). Estos poseen peso molecular menor a 1000 g/mol. Son componentes que tienen capacidad de adsorción ya que, contiene heteroátomos en su estructura. Existen teorías que establecen que las resinas actúan como agentes dispersantes, peptizadores y estabilizadores de los asfaltenos[18,19].

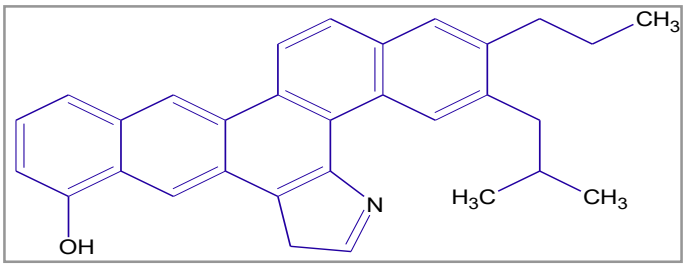


Figura 3. Ejemplo de estructura molecular de una resina en el crudo[14]

www.bdigital.ula.ve

Asfaltenos. Los Asfaltenos son moléculas orgánicas con una estructura similar a las resinas con masa molecular comprendida entre 500 a 2000 g/mol. Son las moléculas con mayor presencia de heteroátomos (O, S y N) y de constituyentes organometálicos de Ni, V y Fe entre otros[20,21,22]. Las estructuras químicas de los asfaltenos son hipotéticas y un ejemplo de este tipo de moléculas se muestra en la Figura 4.

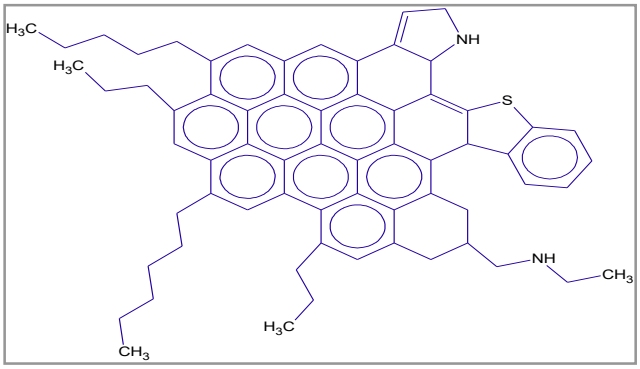


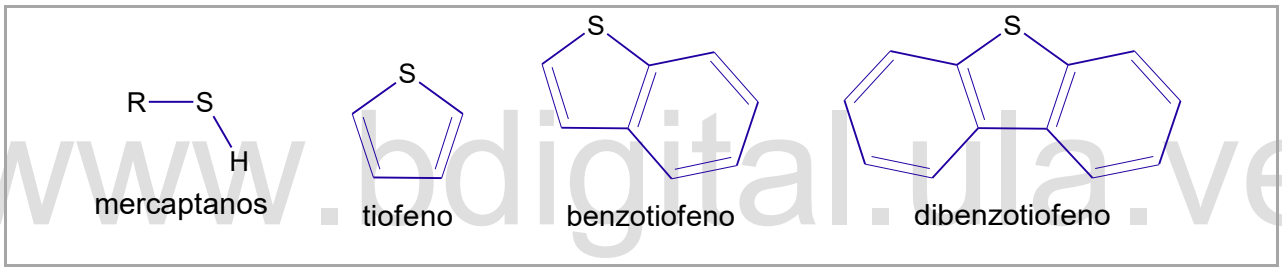
Figura 4. Molécula hipotética de un asfalteno en el crudo (estructura modelo)[14]

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Otros compuestos en el crudo

Además de los compuestos hidrocarburados, en el petróleo se encuentran los compuestos que contienen heteroátomos en su estructura como azufre, oxígeno, nitrógeno y metales, si bien estos se encuentren en menor proporción, su influencia es importante[23]. Inclusive se encuentran formando compuestos cuya complejidad varía con la estructura química del hidrocarburo[14]. Entre los tipos de heteroátomos presentes en el crudo tenemos:

Compuestos Azufrados. Los compuestos azufrados están entre los constituyentes más importantes del petróleo, estos se encuentran formando tioles, mercaptanos, sulfuros, polisulfuros; algunos compuestos que contienen a este heteroátomo se muestran en la Figura 5. El contenido total del azufre se incrementa a medida que el crudo es más pesado, varían desde 0.04% peso para los crudos livianos hasta 5% peso para los crudos pesados[14].



www.bdigital.ula.ve

Figura 5. Algunos compuestos azufrados presentes en el crudo[24]

Compuestos Oxigenados. En el crudo se encuentra una gran cantidad de compuestos oxigenados que forman compuestos como ácidos carboxílicos, fenoles, cetonas, esteres, éteres y anhídridos en proporciones variables[25], algunos ejemplos de ellos se representan en la Figura 6. En general, el contenido de estos está por debajo del 2% en peso[11]. No se conoce claramente la estructura química de los compuestos que contienen oxígeno, sin embargo, en la literatura se reporta que en fracciones de petróleo de bajo peso molecular existen en su mayoría fenoles y ácidos carboxílicos[14].

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

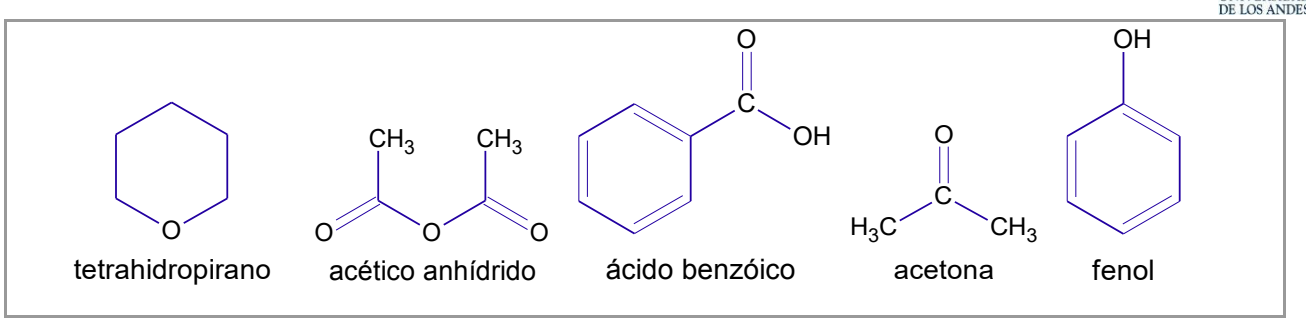


Figura 6. Compuestos oxigenados presentes en el petróleo[25]

Compuestos Nitrogenados. Los compuestos que contienen nitrógeno se encuentran principalmente como piridinas y sus homólogos (quinoleína, indolina, benzoquenoleína entre otros) formando parte de compuestos básicos. De igual manera, se encuentran los compuestos nitrogenados no básicos como pirroles y sus análogos (indoles, carbazoles, entre otros). El contenido de nitrógeno en el crudo existen en una proporción entre 0.1 hasta 0.9 %[11]. Algunos tipos de compuestos que contienen nitrógeno se representan en la figura 7.

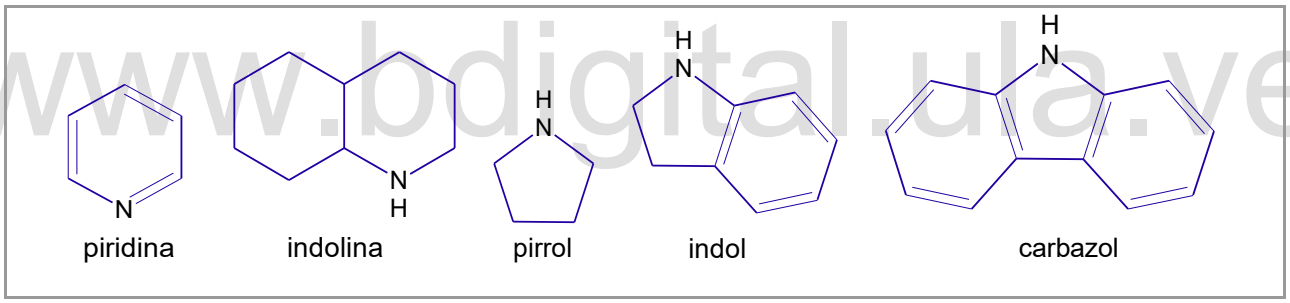


Figura 7. Compuestos Nitrogenados presentes en el crudo[14]

Constituyentes metálicos. Los metales contenidos en los crudos están presentes en dos importantes grupos (formando compuestos organometálicos) como son: los porfirínicos y los no porfirínicos[11]. Las porfirinas son moléculas que están constituidas por heterociclos formados por cuatro anillos pirrol unidos en la posición alfa (α) por puentes metínicos y la parte central del anillo porfirínico es ocupado por un ion metálico coordinado con el anillo pirrólico[11]. Entre los complejos porfirínicos más abundantes están los de níquel y vanadio, algunos ejemplos de estos compuestos se muestran en la Figura 8.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Por otra parte, los complejos no porfirínicos (Ver Figura 9) están conformados por complejos tetradentados con ligandos multiples; estos ligandos pueden ser la combinación de heteroátomos (átomos de azufre, nitrógeno y oxígeno)[26].

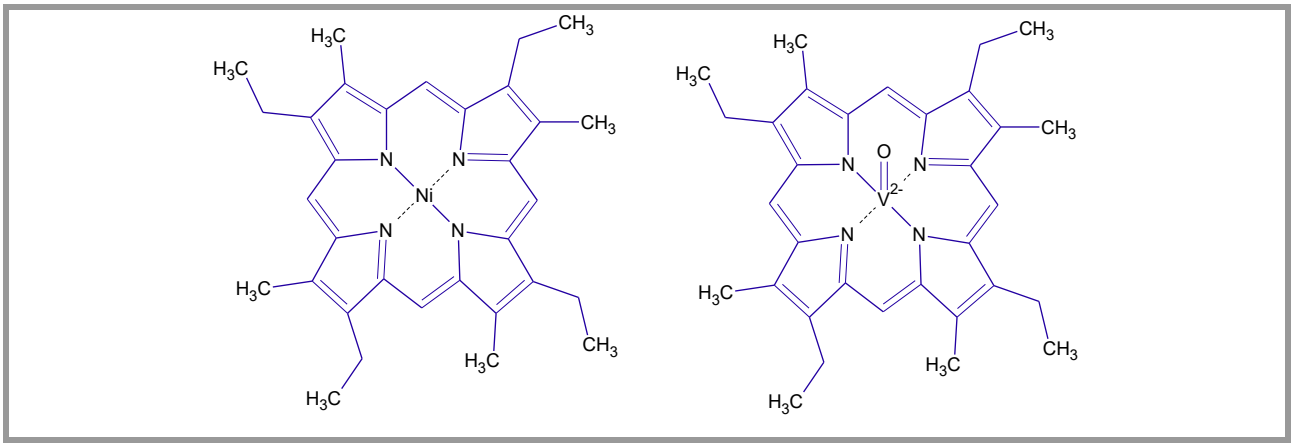
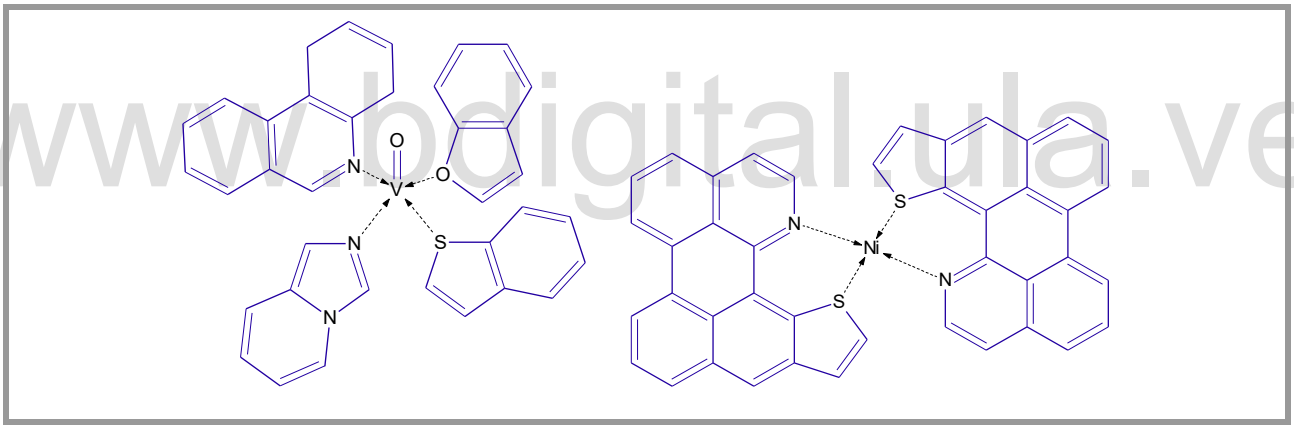


Figura 8.Modelo molecular de porfirinas de níquel y vanadio contenidas en crudo[11]



www.bdigital.ula.ve

Figura 9. Modelo molecular de estructuras no porfirínicas contenidas en crudos[11]

En definitiva, las propiedades y/o composición del crudo varían dependiendo de las diferentes proporciones de hidrocarburos, inclusive de la variación en la concentración de heteroátomos y metales.

2.2 ÁCIDOS EN EL CRUDO

En el Petróleo se encuentran una gran cantidad de compuestos ácidos, formado principalmente por ácidos inorgánicos como H_2S, H_2SO_4, HCl, HNO_3 entre otros. De igual forma, están los ácidos orgánicos que no son más que hidrocarburos unidos a heteroátomos con

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

propiedades acídicas. En general, es posible agrupar los ácidos orgánicos presentes en el crudo en diferentes tipos tal y como se observa en la serie de Tablas que se presentan a continuación:

Tabla 2. Algunos ácidos carboxílicos identificados en el crudo[27,28,29]

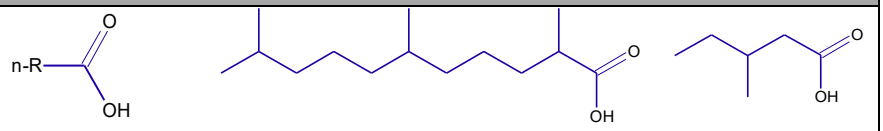
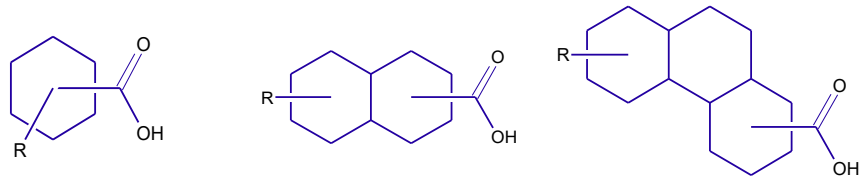
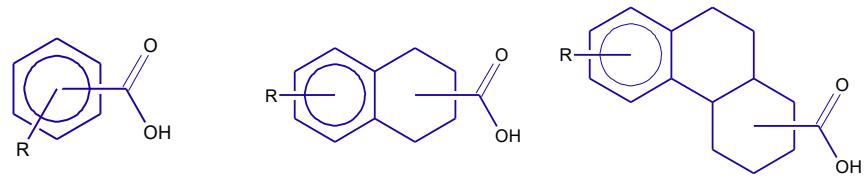
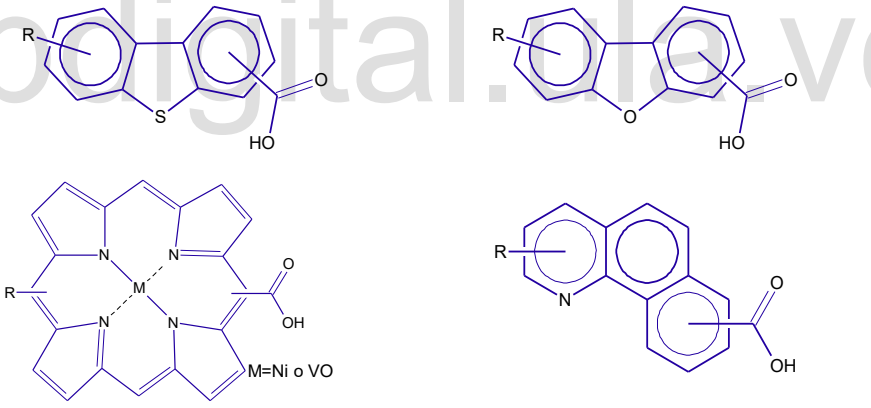
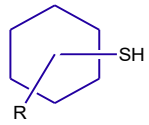
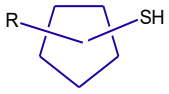
Tipo	Clase	Estructura Representativa
Ácidos Carboxílicos	Alcanoico	
	Nafténico	
	Aromático	
	Heterociclos	

Tabla 3. Algunos tioles identificados en el crudo[27, 28,29]

Tipo	Clase	Estructura Representativa
Tioles	Alifático	
	Nafténico	 

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 4. Algunos compuestos hidroxilos identificados en el crudo[27,28,29]

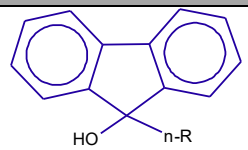
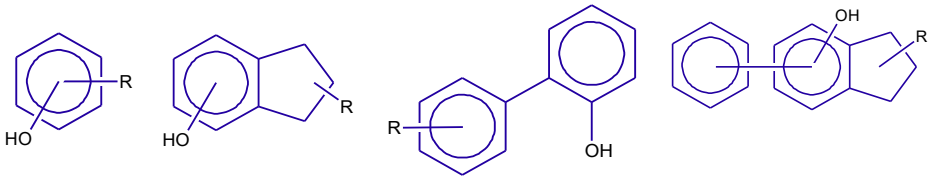
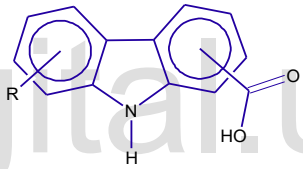
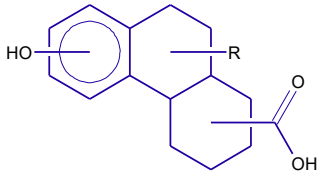
Tipo	Clase	Estructura Representativa
Compuestos hidroxilos	Alcohol	
	Hidroxi-aromático	

Tabla 5. Algunos ácidos multifuncionales identificados en el crudo[27,28,29]

Tipo	Clase	Estructura Representativa
Multifuncional	Dicarboxí-lico	
	Carboxi-pirroles	
	Carboxi-fenoles	

v.bdigital.ula.ve

Según se ha citado en la literatura, se han logrado identificar una gran cantidad de compuestos ácidicos en el crudo[30,31], algunos de ellos se encuentran representados en las Tablas 2, 3, 4 y 5. Entre los ácidos carboxílicos presentes en el crudo se encuentran los ácidos nafténicos, estos son clasificados como monoácidos carboxílicos de formula general RCOOH, donde R representa cualquier estructura alicíclica[32]. Generalmente el término “ácido nafténico” es empleado para incluir a todos los ácidos carboxílicos presentes en el petróleo, aunque en la industria petrolera emplean el término “nafténico” para referirse a todos los ácidos orgánicos presentes en el crudo[33].En la Tabla 2 se representan algunas estructuras de ácidos carboxílicos presentes en el crudo.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Además de los ácidos carboxílicos, en el petróleo se encuentra los compuestos hidroxilos, generalmente ellos están presentes como fenoles, alquilfenoles y sus homólogos; en comparación con los ácidos carboxílicos estos se encuentran a muy baja concentración en el crudo, pero en depósitos de carbón y bitumen se ha evidenciado su presencia a altas concentraciones[34]. En la Tabla 4 se encuentran algunas compuestos hidroxilos presentes en el crudo.

Por otra parte, se encuentran algunos ácidos multifuncionales (Ver Tabla 5), que han sido identificados en el crudo[35], así como los mercaptanos que han sido detectados e identificados en destilados de petróleo[35] (Ver Tabla 3). Los principales compuestos acídicos encontrados en el petróleo poseen en su estructura heteroátomos como oxígeno, nitrógeno y azufre en diferentes proporciones, siendo los de menor abundancia los compuestos azufrados[35].

2.2.1 Importancia de los ácidos orgánicos en el crudo

El impacto de los compuestos acídicos en las propiedades del petróleo es predominantemente negativo. Las especies ácidas orgánicas han representado un problema para la industria petrolera durante años[36], dado que la mayoría de estas especies son moléculas anfifílicas donde el grupo carboxílico representa la parte polar y el esqueleto hidrocarburado representa la parte hidrofóbica[37] (Ver Figura 10). Cuando estos ácidos entran en contacto en sistemas que contienen aceite y agua, estas se distribuyen en las dos fases actuando como surfactantes “naturales” reduciendo la tensión interfacial entre ambas fases (fase orgánica no polar y fase acuosa polar), provocando emulsiones difíciles de romper, dificultando la deshidratación del crudo durante los procesos de producción[38].

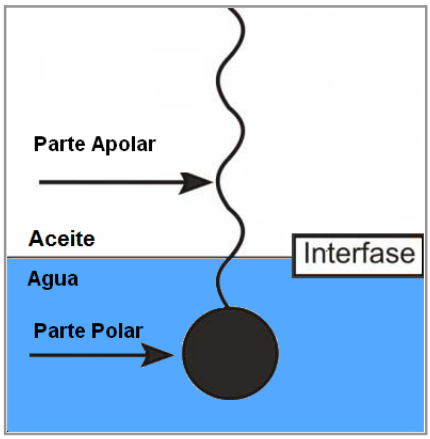


Figura 10. Molécula de un surfactante en un sistema aceite/agua

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Por otra parte, cuando los ácidos presentes en el crudo entran en contacto con iones metálicos como el sodio y calcio, se forman sales de naftenatos (Figura 11), las cuales ocasionan problemas durante el tratamiento de petróleo, ya que forman depósitos pesados que pueden bloquear tuberías y válvulas[39]. Estos depósitos pueden contener asfaltenos, incrustaciones y otros sólidos, con efectos perjudiciales en la estabilidad de los crudos[27].

Figura 11. Depósitos de Naftenatos en sistemas desaladores[33]

www.bdigital.ula.ve

También los ácidos orgánicos producen fenómenos de corrosión en las superficies metálicas a temperaturas elevadas (230-400 °C) principalmente en las refinerías e instalaciones de la industria petrolera. La corrosión del acero debido al ácido nafténico se representa mediante la siguiente reacción[27]:

$$Fe^{(0)} + 2RCOOH \rightarrow (RCOO)_2 Fe^{(2)} + 2H \qquad (1.3)$$

El producto de la reacción (naftenato de hierro) es extremadamente soluble en petróleo dejando la superficie metálica sin productos de corrosión, produciendo así un daño acelerado del metal[40]. Además, los ácidos nafténicos son precursores de coque provocando envenenamiento en los catalizadores usados en la industria petrolera[36]. Por otro lado, entre los beneficios que tienen los compuestos acídicos son diversos; entre los más importantes se tienen que los ácidos orgánicos han sido usados ampliamente como materia prima de varios productos[36], además son de interés en estudios geoquímicos, particularmente migración y biodegradación[41], entre otras cosas[36], haciendo de estos compuestos aprovechables para la industria petrolera.

En la siguiente figura se puede observar el crecimiento que ha tenido en los últimos años la investigación de los ácidos orgánicos presentes en el petróleo; para ello se realizó una revisión

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

bibliográfica con respecto a este tema (alrededor de un total de 38 artículos) a través de dos fuentes de bases de datos (Science Direct y ACS publications) desde 1961 hasta la actualidad.

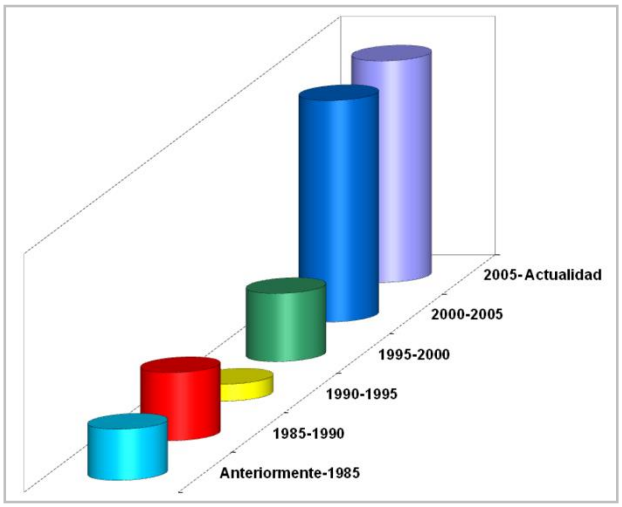


Figura 12. Incremento de la investigación de los ácidos orgánicos presentes en el crudo

2.2.2 Medición de la acidez en el crudo

www.bdigital.ula.ve

Para la medición del contenido de ácidos presentes en el crudo tradicionalmente se realiza una titulación por neutralización con hidróxido de potasio (KOH) denominado Total Acid Number o TAN[42]. El TAN indica los miligramos de KOH necesarios para neutralizar los ácidos presentes en un gramo de hidrocarburo. A partir del TAN se puede establecer que los crudos con un valor menor a 0,5 mg KOH/g son considerados como de bajo potencial corrosivo. Los crudos con un valor TAN de 0,5 a 1,0 mg KOH/g como moderado y superior a 1,0 mg KOH/g como crudos de alto potencial corrosivo. Sin embargo, la titulación no es específica y no da información acerca de la composición de los ácidos, debido a que el KOH titula el total de los compuestos acídicos presentes en el crudo y la proporción de cada uno de ellos varía de acuerdo al tipo de crudo.

2.3 TRATAMIENTO DE MUESTRAS DE CRUDO

Debido a la complejidad molecular que describe al petróleo, no es posible caracterizarlo por moléculas de forma individual. El análisis elemental proporciona información limitada acerca de su composición[7], es por ello que el pretratamiento de la muestra para obtener fracciones menos complejas es una etapa importante ya que, permite la separación del crudo en matrices más

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

simples para su posterior análisis. Se han reportado a lo largo del tiempo una variedad de alternativas para fraccionar el petróleo, entre las más destacadas se encuentran:

2.3.1 Separación SARA

En los años 70, Jewel y colaboradores[43] desarrollaron un método cromatográfico llamado análisis SARA, el cual separa el crudo en cuatro grupos orgánicos bien definidos basándose en la polaridad y solubilidad de sus diferentes componentes[44] ya que, separa al crudo en cuatro fracciones como: Saturados (S), Aromáticos (A), Resinas (R) y Asfaltenos (A) (Ver Figura 13).

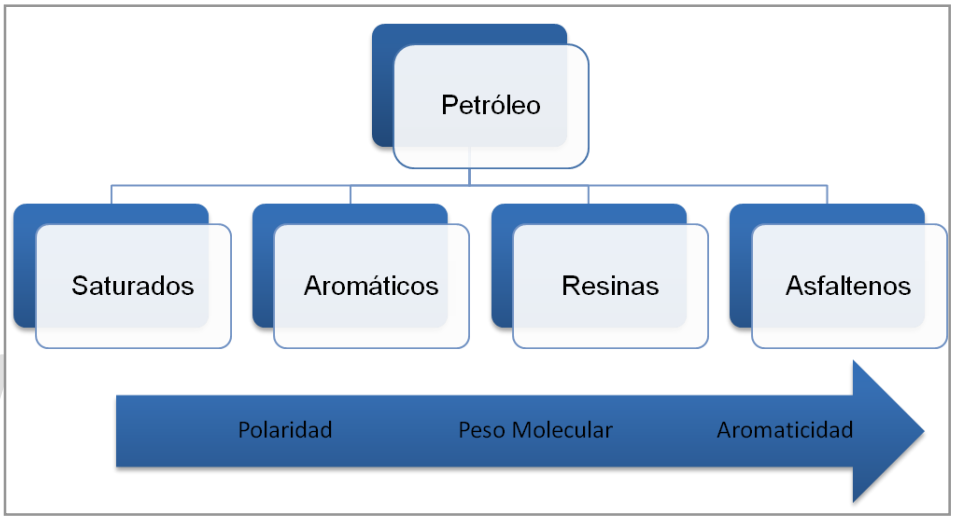


Figura 13. Separación del petróleo mediante fraccionamiento SARA

En la actualidad, existen diferentes metodologías cromatográficas para el fraccionamiento SARA, entre las más importantes se puede citar: la cromatografía en columna abierta de adsorción en arcilla-gel[45], la cromatografía en capa fina (TLC)[46] y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)[47]. La cromatografía en columna abierta de adsorción en arcilla-gel está descrita en la norma ASTM D 2007-03[45], en ella la separación cromatográfica se realiza a través de un sistema con doble columna conteniendo en la primera columna una arcilla con propiedades adsorbentes (atapulgita) que permita retener las fracciones más polares del crudo (resinas) y en la segunda columna sílica gel, para separar los aromáticos de la fracción saturada.

Para una separación más rápida y empleando pequeñas cantidades de muestra se ha desarrollado un sistema de cromatografía de capa fina (TLC) el cual emplea un detector de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

ionización a la llama (FID)[46]. Este método consiste en revelar varillas de cuarzo que están recubiertas con partículas de gel de sílice.

Una metodología SARA que emplea cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) combinado a un detector de índice de refracción y espectrómetro UV, es la descrita bajo el protocolo analítico establecido en la norma del Instituto Francés del Petróleo IFP 9305[47], en ella emplean columnas preparativas empacadas con sílica gel y alúmina, y como fase móvil emplean n-heptano, tolueno, diclorometano y metanol en diferentes proporciones para separar a los maltenos de acuerdo a su polaridad. Los asfaltenos son separados previamente precipitándolos en n-heptano. Dentro de las ventajas de emplear HPLC se encuentran que estas metodologías suelen ser más reproducibles, automatizadas y con menor porcentaje de error que los métodos anteriormente descritos, además las fracciones obtenidas pueden ser caracterizadas posteriormente[47].

2.3.2 Extracción sólido-líquido

Es uno de los métodos más comunes para llevar a cabo separaciones analíticas en muestras complejas de origen medioambiental, farmacéutico, alimentario y de petróleos. Se basan en la extracción de las muestras con disolventes orgánicos clorados o hidrocarburos mediante un extractor Soxhlet[48]. En general, comprende la solubilización del analito presente en una muestra a través del uso de un solvente en caliente, ya que permite separar o retirar compuestos de una fase homogénea por diferencias de solubilidad. Las características del solvente de solubilización, la cantidad de extracciones, la velocidad y el tiempo de agitación dependerán tanto de las características del analito como de la matriz que lo rodea.

Desafortunadamente, las extracciones sólido-líquido posee varias desventajas ya que estos procedimientos necesitan, normalmente, varias horas o más para obtener recuperaciones del analito satisfactorias y los costes de los disolventes son con frecuencia elevados. Las disoluciones de los analitos recuperados son, a menudo, tan diluidas que tras la extracción debe llevarse a cabo un proceso de concentración que puede ir acompañado de la degradación y de la pérdida de analito, así como de la contaminación del mismo[48].

Antecedentes

Gerson Chavez y colaboradores (2003) aislaron diferentes fracciones de un crudo pesado soportado en 3 tipos de alúmina (neutra, ácida y básica) aplicando extracción soxhlet y utilizando

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

como solvente Acetonitrilo (ACN), metanol, n-heptano, tolueno y tetrahidrofurano (THF). Obtuvieron en la fracción 1 (ACN) la porción más polar de las resinas, luego en la fracción 2 (metanol) la porción de menor polaridad de las resinas, seguidamente en la fracción 3 (n-heptano) se obtuvo la porción de saturados y alquil-aromáticos, y por último, en la fracción 4 (tolueno) la porción asfalténica y el resto de aromáticos y poliaromáticos no polares. Finalmente, los compuestos fuertemente retenidos se obtuvieron en la fracción 5 con THF para las alúminas ácida y básica. Por otro lado, en el extracto obtenido de la alúmina neutra se realizó una extracción líquido-líquido para aislar los surfactantes naturales presentes en el crudo en estudio. Las fracciones se caracterizaron empleando espectrometría UV-visible, infrarrojo, tensiometría y cromatografía de permeación sobre geles. Los resultados obtenidos demuestran que existen mezclas de compuestos ácidos con peso molecular promedio relativamente altos (entre 1459 y 1869 Daltons). Por otra parte, el porcentaje de recuperación de los ácidos fue entre 5 a 7 por ciento (con THF, extracción soxhlet), las cuales fueron mayores a las obtenidas con alúmina neutra (extracción líquido-líquido) la cual fue entre 3 y 4%[49].

Belsay Borges y Sócrates Acevedo (2007), separaron los compuestos ácidos del crudo empleando extracción soxhlet, en el cual la fase estacionaria está compuesta por sílice gel modificado con hidróxido de potasio e isopropanol (para formar silicatos de potasio), y utilizaron una mezcla de 20% ácido fórmico (HCOOH) en $CHCl_3$ para extraer la fracción ácida. Concluyeron que existen dos tipos de compuestos de ácidos carboxílicos en el crudo Carabobo, uno de aspecto físico resinoso, de bajo peso molecular altamente alifático y otro de aspecto físico sólido negruzco, de alto peso molecular y un poco más alifático que el típico asfalteno[50].

Yahe Zhang y colaboradores (2011) sometieron el crudo a una extracción soxhlet para obtener diversos compuestos de ácido en varias fracciones, para ello prepararon un dedal empacado con una sílica modificada con KOH e Isopropanol. La muestra de crudo se separó en nueve subfracciones, las primeras cinco se obtienen por recirculación de $CHCl_3$ y las ultimas (6-9) se obtienen por recirculación de una mezcla $CHCL_3$/HCOOH. El análisis de las subfracciones se realizó por GC-MS y por espectrometría de masas de resonancia de ión ciclotrón con transformada de Fourier (FT-ICRMS, por sus siglas en inglés, *Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*). Los resultados obtenidos muestran que el sistema por extracción soxhlet es una técnica de separación adecuada para la partición de crudo en compuestos ácidicos en diferentes subfracciones[51].

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.3.3 Extracción líquido-líquido

En la extracción líquido- líquido se separa los componentes de una mezcla líquida, con ayuda de un solvente que solubiliza preferentemente a uno de ellos. A menudo, se emplea un ajuste de pH para controlar la ionización, y una re-extracción a diferente pH para mejorar la selectividad y la recuperación. La extracción líquido-líquido es una operación lenta y tediosa, dependiente de la habilidad del operador y que está expuesta a numerosos problemas técnicos (formación de emulsiones, manipulación de grandes cantidades de solventes tóxicos e inflamables, entre otros). Adicionalmente, en el análisis de trazas debe considerarse que los solventes de extracción pueden agregar nuevos compuestos a la muestra a analizar y que estos compuestos pueden interferir en la determinación del analito[48].

Antecedentes

Lijuan J. Shi y colaboradores (2008) removieron ácidos nafténicos de crudos de Beijiang, China, empleando para ello una extracción líquido-líquido utilizando como agente removedor de ácidos un líquido iónico, el cual consiste en una solución de 20% $^{v}/_{v}$ de 2-metilimidazol en etanol, con ello lograron separar al crudo en dos fases, la fase superior contiene al líquido iónico con la fracción acídica y la fase inferior es el crudo sin ácidos. Los resultados obtenidos indican que se obtienen ácidos nafténicos de alta pureza y que el porcentaje de remoción de ácidos fue de un 67% para los crudos estudiados, disminuyendo así su valor en número total de ácidos[52].

www.bdigital.ula.ve

2.3.4 Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida consiste en percolar un volumen conocido sobre un sorbente sólido bajo condiciones controladas, permitiendo aislar, purificar y preconcentrar con éxito analitos según sea necesario para su posterior análisis. Los componentes de la muestra se separan por migración diferencial desde la fase estacionaria hacia los solventes de lavado y elución, atendiendo a las diferencias en cuanto a propiedades físicas y químicas, las cuales favorecen las fuerzas de retención para algunos compuestos y las fuerzas de elución para otros.

Se emplean columnas o cartuchos fabricados con polipropileno que contienen entre 50 y 1000 mg de distintos materiales de relleno (sorbente) según la aplicación concreta a que se destine, estos son soportes de sílica-gel modificado con un determinado polímero poroso (cadenas hidrocarbonadas C8, C18, polímeros de poliestireno-divinilbenceno, resinas del tipo Amberlita-

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

XAD y poliuterano)[48] cuyo tamaño de partícula está entre 40 y 60 μm de diámetro[48]. Los diferentes sorbentes se clasifican según el tipo de interacción que tengan con el analito. Las interacciones son consecuencias de sus propiedades químicas y básicamente son de tres tipos: interacciones polares, interacciones no polares e interacciones de intercambio iónico. Esta última clase se subdivide en intercambio aniónico e intercambio iónico.

Las interacciones iónicas ocurren entre las moléculas de analito con cargas opuestas a las del sorbente. Los grupos iónicos pueden estar cargados (positiva o negativamente) o no dependiendo del pH del medio. Cuando el sorbente contiene grupos funcionales cargados negativamente y el contraión intercambiable del analito en la matriz de la muestra está cargado positivamente, el proceso de acumulación se llama intercambio catiónico. Por el contrario, si el grupo funcional en la superficie del sorbente está cargado positivamente y el contraión intercambiable del analito en la matriz de la muestra líquida está cargado negativamente, el proceso de acumulación se llama intercambio aniónico. Los sorbentes de intercambio aniónico por lo general contienen grupos funcionales débilmente básicos como las aminas primarias o secundarias (se cargan a condiciones de pH bajos) o grupos de amonio cuaternario muy básicos (se cargan a todos los pH). En la figura 14 se representa una amina cuaternaria empleada como sorbente de intercambio aniónico.

www.bdigital.ula.ve

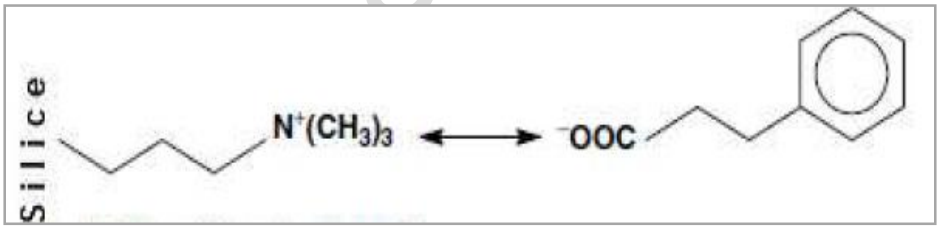


Figura 14. Amina cuaternaria (trietilamino-propil) empleada como sorbente de intercambio aniónico

La fuerza iónica también juega un papel importante en las separaciones SPE de intercambio iónico. La fuerza iónica es una medida de la concentración total de iones presentes en el medio. La retención del analito en la fase estacionaria será función del número de otras especies iónicas presentes en la matriz y disolvente capaces de competir por los grupos cargados del adsorbente. Así, bajas fuerzas iónicas promueven la retención del analito, mientras que altas fuerzas iónicas facilitan la elución.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Etapas de la extracción en fase sólida. El primer paso para la extracción en fase sólida es el acondicionamiento o solvatación de los grupos funcionales del material del relleno, este paso es necesario a fin de garantizar una interacción reproducible del sorbente con el analito. Los analitos no pueden interactuar con el sorbente si sus grupos no se encuentran totalmente activados. Luego del acondicionamiento el sorbente, se aplica la muestra, esta se puede realizar con presión positiva o negativa con un caudal entre 1-10 mL/min. Esta operación se puede efectuar de dos formas distintas de acuerdo al modo de trabajo que se seleccione, estas dos modalidades son:

- La muestra pasa a través del sorbente de fase sólida que retiene los interferentes mientras que los analitos eluyen.
- La muestra pasa a través de un sorbente de fase sólida que retiene los analitos y, posiblemente, algunos interferentes. Estos se eliminan del sorbente y después se eluyen los analitos.

Seguidamente se realiza una etapa de lavado con la que se pretende desorber los interferentes que hayan podido quedar retenidos. Finalmente, los compuestos de interés se eluyen mediante el paso del volumen necesario de un solvente fuerte para despazar el analito del sorbente. En la figura 15 se representa un esquema del procedimiento de la SPE.

www.bdigital.ula.ve

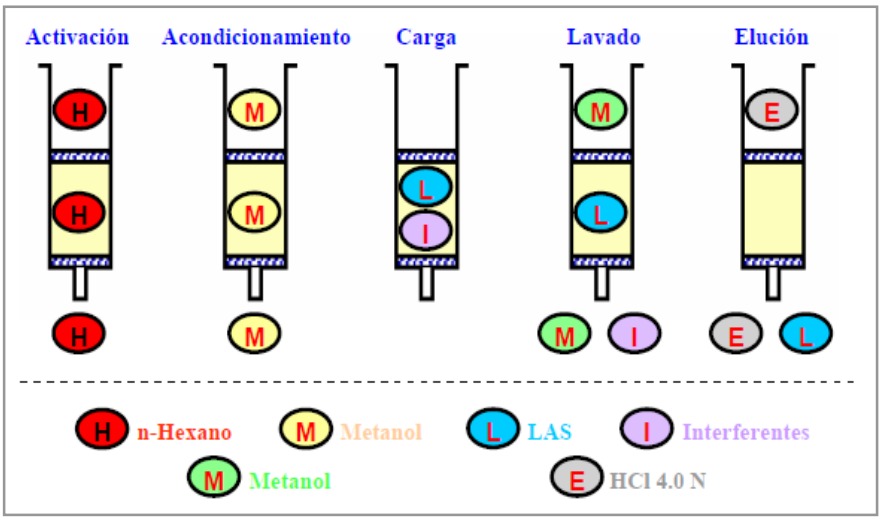


Figura 15. SPE para la purificación del extracto (LAS) en un cartucho conteniendo una sal de amonio cuaternaria (SAX)

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

La extracción en fase sólida ofrece un gran número de importantes beneficios cuando son comparadas con otros tipos de extracción, tales como la minimización del uso de solventes, altas recuperaciones de analitos, rápida separación, facilidad para acoplarse a diferentes técnicas de separación o técnicas de detección, posibilidad de usar sorbentes especiales para aplicaciones específicas y de procesar simultáneamente múltiples muestras.

Antecedentes

W. A. MacCrehan y colaboradores (1987) aislaron fenoles en el petróleo empleando cartuchos C-18, para ello disolvieron el crudo en hexano y extrajeron con una mezcla de 60%v/v metanol/agua conteniendo 0.1M de NaOH. La capa acuosa se filtró a través de un cartucho SPE de C-18, de esta manera van quedando los interferentes en el sorbente y los fenoles no son retenidos en el cartucho ya que, estos se encuentran formando fenolatos en el medio. Concluyeron que la mezcla 60%v/v metanol/agua para la extracción de fenoles es óptima ya que esta disminuye la formación de emulsiones[53].

Umer Farooq y colaboradores (2011) emplearon un método de extracción en fase sólida para extraer las especies acídicas del crudo, para ello usaron una resina de intercambio aniónico (amina cuaternaria SAX) la cual fue empleada como sorbente de estas especies. El sorbente es activado con una mezcla de $NaHCO_3/Na_2CO_3$ luego con agua desionizada y por último emplearon metanol. Después el sorbente es acondicionado con diclorometano, luego se carga la muestra, y los interferentes son eluídos con diclorometano. La fracción acídica queda retenida en el sorbente[54].

D. M. Jones y colaboradores (2001) emplearon un método por SPE para determinar ácidos alifáticos y nafténicos en el petróleo, para ello utilizaron como sorbente aminas cuaternarias. El sorbente es activado añadiendo n-hexano. Luego es cargado el crudo y los interferentes son removidos eluyendo n-hexano seguido de diclorometano. Las fracciones ácidas retenidas en el sorbente son eluídas con dietileter conteniendo 2 % (v/v) de ácido fórmico. Posteriormente, esta fracción es metilada (BF/metanol o diazometano) y analizadas GC-MS. Concluyeron que la SPE es un método rutinario, cuantitativo y reproducible para el análisis de ácidos alifáticos y nafténicos en crudos, además que se emplean bajo volúmenes de solventes. Demostraron ser efectivas para crudos livianos y pesados[55].

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.4 FUNDAMENTOS DE CROMATOGRAFÍA

El término cromatografía deriva de las palabras griegas *chroma* (color) y *graphein* (escribir), fue descubierto y empleado por primera vez en el año 1903 por el botánico ruso Mikhail Tswett[48]. La cromatografía es un método usado principalmente para la separación de los componentes de una muestra, en la cual los componentes se distribuyen en dos fases, una de ellas es estacionaria, mientras que la otra se mueve a través de la fase estacionaria (fase móvil); todos los componentes de una mezcla son transportados a través de la fase estacionaria (que es fijada en una columna o en una superficie sólida) por el flujo de una fase móvil (líquido, gas o fluido supercrítico), y las separaciones se basan en las diferencias de velocidad de migración de los distintos componentes de la mezcla en las dos fases[60]. Existen diferentes tipos de cromatografía, en la Tabla 6 da una relación de las tres clases generales de cromatografía en columna, según la naturaleza de la fase móvil.

Tabla 6. Clasificación de los métodos cromatográficos[60]

Clasificación general	Método específico	Fase estacionaria	Tipo de equilibrio
Cromatografía líquida	Reparto	Líquido adsorbido o unido a una superficie sólida	Reparto entre líquidos inmiscibles
	Adsorción	Sólido	Adsorción
	Intercambio iónico	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por tamaño	Líquido en los intersticios de un sólido polimérico	Reparto/tamizado
	Afinidad	Líquido con grupo específico unido a una superficie sólida	Reparto entre líquido superficial y líquido móvil
Cromatografía de gases	Gas-líquido	Líquido absorbido sobre una superficie sólida	Reparto entre gas y líquido
	Gas-sólido	Sólido	Adsorción
Cromatografía de fluidos supercríticos	-	Especie orgánica unida a una superficie sólida	Distribución entre el fluido supercrítico y la superficie unida

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

A pesar de las diferencias entre las distintas modalidades, los principios que gobiernan la separación son los mismos en todos los casos. La separación cromatográfica se produce porque las moléculas de soluto se distribuyen entre las dos fases en función de su afinidad relativa en cada una de ellas.

A lo largo del sistema cromatográfico, los solutos se mueven a diferentes velocidades, dependiendo del tipo de interacción con la fase estacionaria y la fase móvil (puentes de hidrógeno, interacciones dipolares, hidrofóbicas y electrostáticas), así el componente afín a la fase estacionaria se retiene más (tardando más tiempo en salir) y el componente afín a la fase móvil se retiene menos (eluye antes)[60].

Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente mediante un sistema de detección, la cual se puede representar a través de un cromatograma (Ver Figura 16), correspondiendo cada pico a un analito diferente[60].

ww .ve

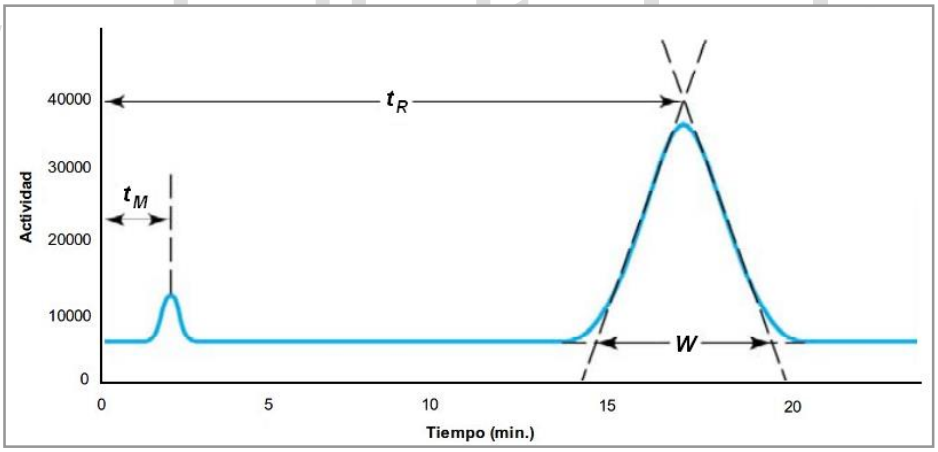


Figura 16. Cromatograma de una mezcla de dos componentes

En un cromatograma se puede obtener las siguientes variables:

Volumen de elución (Ve). O tiempo de retención (t_R), es el volumen de la fase móvil eluida entre la inyección y la elución de la concentración máxima del soluto[60].

Volumen muerto (Vo). O tiempo muerto (t_o), volumen requerido entre la inyección de la muestra y la aparición del primer pico[60].

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Anchura de pico (W). Es la distancia entre los puntos de intersección de las tangentes con la línea base.

A partir de los parámetros obtenidos en un cromatograma se pueden determinar las siguientes variables:

Factor de retención (k´). Es la cantidad de tiempo que pasa un soluto en la fase estacionaria en relación con el tiempo que pasa en la fase móvil[60].

$$k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \tag{1.4}$$

Selectividad (α). Como su nombre lo indica, es un término que define que tan selectiva es una columna para separar dos picos[60]. Se define como:

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} = \frac{k_B}{k_A} \tag{1.5}$$

www.bdigital.ula.ve

Resolución (R). Es el parámetro que expresa el grado de separación que se puede obtener en un sistema cromatográfico para dos componentes dados[60]. Se define como:

$$R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B} \tag{1.6}$$

Eficiencia de una columna (N). Este término se utiliza para describir el ensanchamiento de una banda que se produce cuando el soluto pasa a través de una columna cromatográfica. Se define en base a dos teorías: la teoría de los platos teóricos y la teoría de la velocidad.

La teoría de los platos teóricos proviene de un estudio desarrollado en el año 1941 por Martin y Synge, basándose en considerar a una columna cromatográfica como si estuviera constituida por numerosas capas denominadas platos teóricos y en ella se establece el equilibrio del soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil, y el desplazamiento del analito a través de la columna se trata como una transferencia de la fase móvil desde un plato al siguiente. La eficacia de una columna aumenta al hacerlo el número de estas transferencias, esto es, al aumentar el número de platos teóricos[48]. El número de platos teóricos se define como:

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

$$N = \frac{L}{H} = 16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2 \quad (1.7)$$

Donde *L* es la longitud del relleno de la columna (cm), *H* es la altura del plato y *W* es la anchura del pico medido en la base.

Este modelo explica con éxito la forma gaussiana de los picos cromatográficos y también los factores que influyen en las diferencias en la velocidad de migración del soluto, pero falla al intentar justificar el ensanchamiento de los picos. A partir de esto se desarrolló la teoría de la velocidad, ya que describe las formas y anchuras de las bandas de elución en términos cuantitativos, a partir de un mecanismo de trayectoria aleatoria para la migración de las moléculas a través de una columna. La primera ecuación fue postulada por Van Deemter en el año 1956. Según Van Deemter, las contribuciones al ensanchamiento de banda dentro de una columna cromatográfica, son tres, y se representan en la siguiente ecuación:

$$H = A + \frac{B}{u} + C_s u \quad (1.8)$$

www.bdigital.ula.ve

Proceso multipaso (*A*) (Difusión de eddy): Este término representa el efecto de la trayectoria multiple que el soluto recorre a través de una columna empacada, dado que las moléculas seguirán caminos variables, por tanto, los tiempos de residencia en la columna también serán variables causando ensanchamiento de banda[56].

Difusión longitudinal (B): representa la difusión longitudinal del soluto en la fase móvil, ya que las moléculas no permanecerán inmóviles sino que difudirán en todas direcciones hasta que su concentración sea uniforme en todo el seno del líquido contribuyendo al ensanchamiento de banda[48].

Resistencia a la transferencia de masa (*Cs*): este término corresponde a un proceso reversible donde las moléculas se transfieren desde la fase móvil hacia la fase estacionaria, este término es dividido en dos, según se considere la transferencia de masa en la fase estacionaria y en la fase móvil.

La resistencia a la transferencia de masa en la fase móvil explica la interacción que tiene el soluto con la fase estacionaria, ya que las moléculas más favorables a la interacción con la fase estacionaria son las más cercanas a ésta, mientras que las más alejadas demorarán más tiempo

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

para que esta interacción tenga lugar. Como la fase móvil está en movimiento, las moléculas más alejadas de la partícula habrán viajado un determinado trayecto antes de que sean retenidas por la fase estacionaria, lo que producirá un ensanchamiento de banda. Por otra parte, la resistencia a la transferencia de masa en la fase estacionaria ocurre cuando las moléculas del soluto quedan retenidas mayor tiempo en la fase estacionaria, las más próximas a la superficie serán devueltas más rápidamente que las moléculas que difundieron profundamente, lo que ocasionará a un ensanchamiento de banda. En la figura 17 se representa las contribuciones al ensanchamiento de banda de cada uno de los términos de la ecuación de Van Deemter.

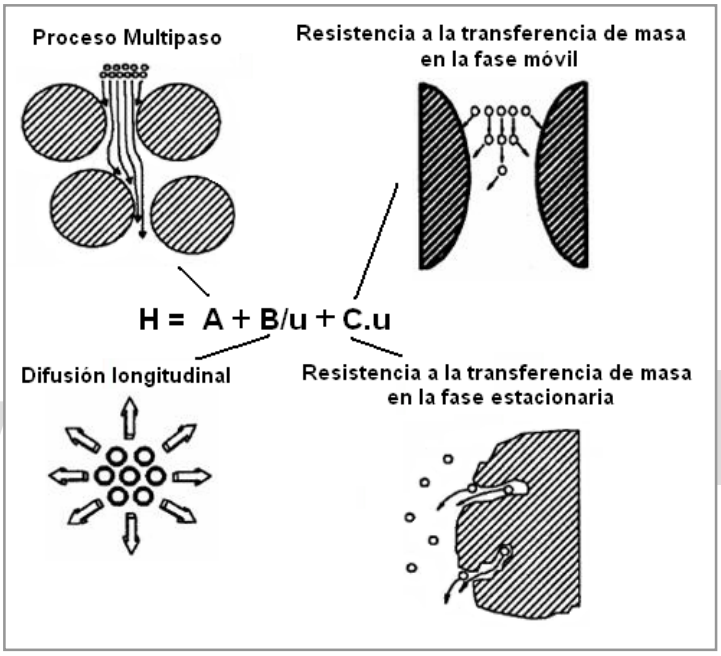


Figura 17. Procesos de ensanchamiento de banda en la columna cromatográfica[48]

2.4.1 Cromatografía de Gases

La cromatografía de gases es una técnica descrita en los años 50[57] y en la actualidad es uno de los métodos ampliamente usados para la separación, cuantificación e identificación de componentes. En esta técnica la muestra se volatiliza y se inyecta a la cabeza de una columna cromatográfica, esto implica que la muestra debe ser volátil y térmicamente estable. La elución se produce por el flujo de un gas inerte. A diferencia de la cromatografía liquida, la fase móvil no interactúa con las otras moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna[60].

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía de gas sólido y la cromatografía de gas líquido. En la cromatografía de gas sólido, la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de adsorción. Precisamente este proceso de adsorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. La cromatografía gas-liquido utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte[57]. Los componentes básicos de un instrumento para la cromatografía de gases se muestran en la Figura 18. A continuación se da una descripción de cada uno de los componentes

Gas carrier. El gas carrier consiste principalmente en transportar los componentes de la muestra a través de la columna; estos gases, en principio, no afectan a la separación de los analitos, ya que no tienen ninguna influencia en el proceso de sorción-desorción o de partición que se produce en la columna. Generalmente se emplean gases inertes como Helio, Argón, Nitrógeno o Hidrógeno, y la elección de estos en ocasiones depende del tipo de detector empleado[60]. La pureza de los gases es sumamente importante, se requieren altos niveles de pureza, es decir, 99.995%.

www.bdigital.ula.ve

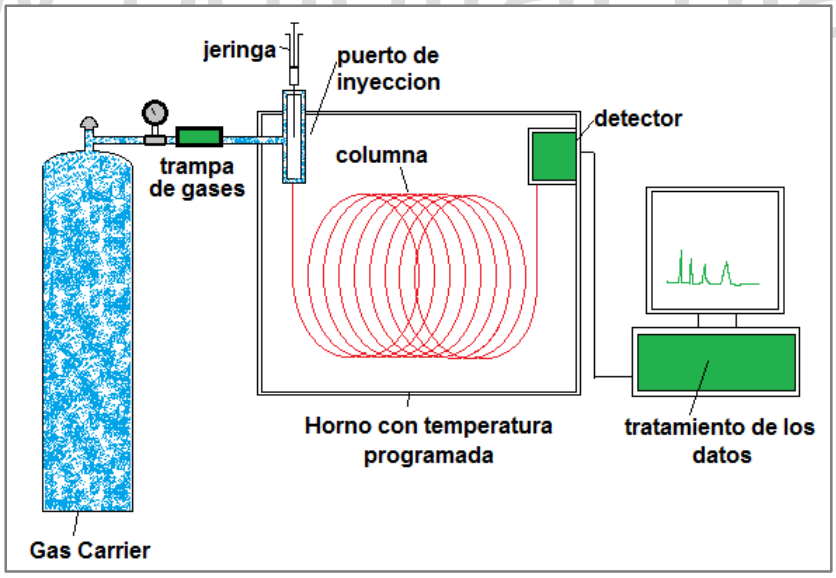


Figura 18. Diagrama de un cromatógrafo de gases

Horno. La temperatura de la columna es una variable importante, por ello la columna se introduce dentro de un horno de temperatura controlada. El horno debe cumplir con una serie de requisitos tales como establecer una temperatura fija con gran precisión (dentro de los límites de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

± 1 C), tener escasa inercia térmica y poseer un sistema de control de temperatura sofisticado que incluya la posibilidad de programar los cambios de temperatura del horno en función del tiempo[60].

Sistema de inyección de muestra. El puerto de inyección es un dispositivo que permite volatilizar e introducir la muestra a analizar bien sea liquida o gaseosa, e incorporarla a la corriente del gas carrier que va hacia la columna de separación. Se trata de una cámara de vaporización situada a la cabeza de la columna y calentada independientemente de esta (generalmente a temperatura superior del punto de ebullición del componente más volátil de la muestra), que suele tener una membrana de silicona llamada septa a través de la cual se introduce la muestra con la ayuda de una microjeringa[57]. Existen diferentes tipos de puerto de inyección de los cuales se pueden nombrar los más usados:

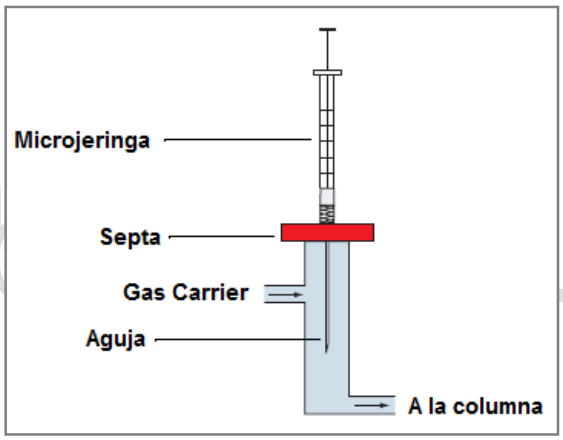


Figura 19. Puerto de Inyección

Inyector Split/Splitless: este tipo de inyector, es el más sencillo que utilizan para cromatografía capilar, consta básicamente con los mismos elementos que un inyector normal, con la diferencia de que tiene adicionalmente un sistema división de flujo a la salida de la cámara de vaporización, y de esta manera, dividir la muestra para evitar sobrecargar la columna[57].

Cuando este inyector se encuentra en modo Split, el flujo del gas carrier pasa a través del inyector con la muestra vaporizada y la divide en dos, una parte es introducida en la columna y la otra parte escapa fuera del sistema a través de una válvula de aguja que permite controlar la proporción de gas que es introducido en la columna. Esta división permite que se inyecte a la cabeza de la columna una pequeña cantidad de muestra dando lugar a que las cantidades de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

analito que llegan al detector sea muy pequeñas, por lo que los límites de detección aumentan bastante, lo que es un gran inconveniente a la hora de realizar análisis de trazas[57].

Para el análisis de analitos de baja concentración, se emplea el inyector en modo Splitless, ya que en este caso, la totalidad de la muestra es dirigida hacia la columna. La columna debe estar a una temperatura inferior al punto de ebullición del componente más volátil de la muestra para que esta se condense en la cabeza de la columna y así concentrar los componentes a analizar (efecto solvente). A partir de esto, se comienza un programa de calentamiento de la columna para realizar el análisis. La reconcentración de la muestra en la cabeza de la columna origina que las pérdidas de eficacia debido a una inyección inadecuada sean de mucha menor importancia que en otras técnicas de inyección.

Otros puertos de inyección empleados, son los puertos empacados, cuyo diseño es parecido al del puerto Split/Splitless pero sin el sistema de división de muestra; estos son instalados para emplearse con columnas empacadas y tienen la ventaja de poder introducir mayor cantidad de muestra (entre 1 y 20 µL). También existen válvulas rotatorias para inyección de gas, el cual emplea un loop el cual permite cargar las muestras de gas a un volumen fijo que luego a través de un switcheo de la misma es integrado al gas carrier para ser introducido en la columna de separación[57].

www.bdigital.ula.ve

Columna. La separación de una mezcla en sus componentes individuales ocurre en la columna. Para cromatografía de gases, se emplean dos tipos de columnas, las empacadas o de relleno y las tubulares abiertas o capilares. Estas últimas son más comunes en la actualidad, debido a su mayor rapidez y eficiencia. La longitud de estas columnas es variable, de 2 a 60 metros, y están construidas en acero inoxidable, vidrio y sílice fundida. Debido a su longitud y a la necesidad de ser introducidas en un horno, las columnas suelen enrollarse en una forma helicoidal.

Las columnas capilares son de dos tipos básicos: las de pared recubierta (WCOT, por sus siglas en inglés *Wall Coated Open Tubular*) y las de soporte recubierto (SCOT, por sus siglas en inglés *Support Coated Open Tubular*). Las WCOT son simplemente tubos capilares donde la pared interna se ha recubierto con una finísima capa de fase estacionaria. Las columnas SCOT tienen en su parte interna una fina capa de material absorbente como el empleado en las columnas de relleno donde se ha adherido la fase estacionaria. Por otro lado, las columnas empacadas, cuya longitud varía entre 1.5 a 10 metros y un diámetro interno de 2 a 4 mm. En el interior se rellena

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

con un material sólido, finamente dividido y homogéneo, recubierto con una capa de fase estacionaria liquida (el espesor varía entre 50 nm y 1 µm)[57].

La fase estacionaria más empleadas para las columnas capilares y empacadas incluyen: Metilsiliconas para compuestos no polares hasta moderadamente polar), Fenilmetilsiliconas (que varían entre 5 a 50 % de Fenil) para olefinas, aromáticos y compuestos moderadamente polar y fase estacionaria Carbowax (Poliglicol) para compuestos muy polares y ácidos. Además se emplean para las columnas empacadas las fases estacionarias como Molecular Sieve, Alúmina y Porapacks para análisis de gases permanentes como oxígeno, nitrógeno, hidrogeno, helio, CO2, CO, metano entre otros.

Detectores. Al igual que en cromatografía liquida, los detectores permiten identificar cada uno de los componentes de la muestra a la salida de la columna cromatográfica. Entre los detectores empleados en cromatografía de gases están:

Detector de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés *Flame Ionization Detector*) es uno de los detectores más empleados para el análisis de la mayoría de los compuestos orgánicos. Consiste en un quemador por el cual el gas carrier proveniente de la columna se mezcla con hidrogeno y aire para formar una llama. Cuando los compuestos se pirolizan a la temperatura de una llama de hidrogeno/aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad. Ofrece alta sensibilidad, un gran intervalo de respuesta lineal y bajo ruido, sin embargo es un detector destructivo a la muestra. Excepciones como grupos funcionales tales como carbonilo, alcohol, halógeno y amina originan en la llama pocos iones o prácticamente ninguno[57]. Por otro lado, el detector es insensible a los gases no combustibles como H_2O, CO_2, NO_x y SO_2.

Detector selectivo de masas (MSD por sus siglas en inglés, *Mass Spectral Detector*): este tipo de detectores es uno de los más empleados para la identificación de compuestos. Consiste en ionizar las moléculas por medio de un bombardeo de electrones para la fragmentación de las mismas. Esto resulta en diferentes patrones de fragmentos en el cual puede ser empleado para identificar el compuesto de la muestra. Hay dos tipos comunes de fuentes de ionización los cuales son por ionización química y por impacto de electrones[58].

Una vez ionizado, los compuestos entran al filtro de masas o cuadrupolo, el cual mueve los iones elegidos desde la fuente de iones hacia el detector, filtrando y separando iones basándose en su

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

carga/masa. Una vez que la muestra ionizada ha sido filtrada por la proporción de masa/carga en el cuadrupolo, la abundancia se detecta y se visualiza en un software el cual contiene un sistema de datos. Algunos instrumentos están equipados además con biblioteca de espectros para la identificación de los compuestos[58].

Los detectores espectrométricos de masas tienen por lo común varias formas de presentación de datos, que se agrupan en dos categorías: de tiempo real y reconstituido por ordenador. Dentro de cada una de estas categorías se puede elegir entre los cromatogramas que registran la intensidad de todos los iones (una representación de la suma de las intensidades de todos los iones en función del tiempo), los cromatogramas que registran la intensidad de un ion seleccionado (una representación de la intensidad para uno o unos pocos iones en función del tiempo), y los espectros de masas de diversos picos[58]. En la figura 20 se representa un esquema general de un espectrómetro de masas.

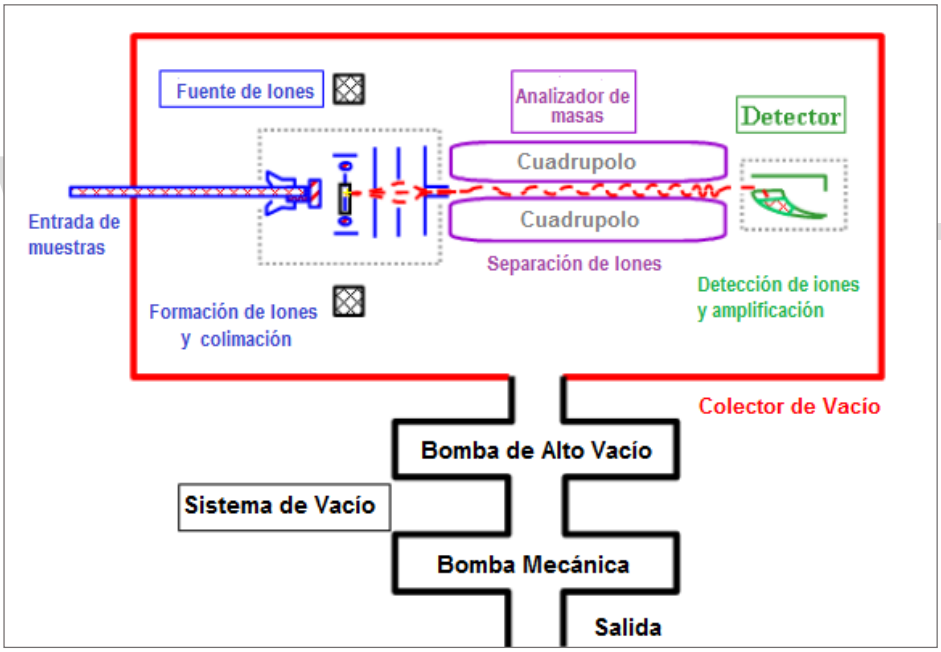


Figura 20. Esquema General de un espectrómetro de masas[58]

Antecedentes

Yahe Zhang y Colaboradores emplearon un GC-MS en apoyo con extracción soxhlet, para identificar compuestos acídicos en un crudo proveniente de Bohai Basin, China. Las condiciones del GC-MS están descritas en la Tabla 7. Los autores lograron identificar Fenoles Isoprenoides

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

con fórmula molecular de $C_{27}H_{48}O$ y $C_{28}H_{50}O$, además de Tocoferoles con fórmula molecular de $C_{27}H_{46}O_2$ de acuerdo con la librería NIST (NIST, por sus siglas en inglés *National Institute of Standard and Technology*) empleada[59].

Tabla 7: Condiciones del GC-MS empleado por Yahe Zhang y Col en su investigación

Dispositivo	Condiciones de Operación
Columna	Especificaciones: HP-5MS Dimensiones: 30 m x 0.25 mm; 0,25 um
Programa de Temperatura	Temperatura inicial: 80 °C por 1 min 1 Rampa: 5 °C/min hasta llegar a 220 °C 2 Rampa: 8 °C /min hasta llegar a 310 °C Temperatura final: 310 °C por 12 min
Puerto de Inyección	Modo: Splitless. Temperatura: 300 °C
Detector MS	Fuente: Impacto de Electrones Modo: Scan de 35 a 500 Da

www.bdigital.ula.ve

2.4.2 Cromatografía Líquida de Alta Resolución

Desde sus inicios a finales de los años sesenta la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés, *High Performance Liquid Chromatography*) ha tenido mayor difusión en el análisis químico, debido a que con el uso de este se incrementa la eficiencia de los sistemas cromatográficos, ya que se emplean columnas empacadas con pequeños tamaños de partículas (de 3 a 5 µm), incrementando el número de platos teóricos. A partir de entonces, las aplicaciones de ésta técnica han ido aumentando siendo factible la separación, caracterización y cuantificación de una gran variedad de compuestos.

El sistema de HPLC requiere de instrumental especial que permita trabajar con las altas presiones requeridas, entre ellas se tienen:

Sistema de Bombeo. En HPLC, el tamaño de las partículas en las columnas empaquetadas impide el flujo de la fase móvil. Es por esto que es necesario un sistema de bombeo que permita flujo razonable de la fase móvil, de lo contrario los análisis serían excesivamente lentos. Se utilizan tres tipos de bombas, bombas de desplazamiento, bombas neumáticas y bombas recíprocas; siendo esta última la más empleada para la mayoría de los equipos HPLC, estos

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

consisten en una pequeña cámara en el cual el disolvente es impelido por el movimiento de vaivén de un pistón accionado por un motor de arrastre.

Sistema de inyección de muestra. El sistema de inyección de muestras más usado se basa en un bucle de muestras. Este tipo de dispositivo es parte integral de algunos equipos de HPLC. Frecuentemente se encuentran disponibles bucles intercambiables de una amplia gama de tamaños que varían de 5 a 500 μl. La reproducibilidad típica de las inyecciones con bucles de muestra es del orden de décimas por ciento. Muchos instrumentos de HPLC incluyen un muestreador dotado de un inyector automático, que permite la inyección continua de volúmenes variables.

Fase móvil. Aunque la fase móvil no es parte instrumental propiamente dicho, el control de la presión, el flujo y la composición de la misma son muy importantes, algunas de las características que debe presentar toda fase móvil para ser empleado en HPLC son: alto poder solubilizante de las muestras, baja reactividad, compatibilidad con el detector utilizado, baja viscosidad, seguridad y alto grado de pureza. Los disolventes más empleados en HPLC se encuentran en la tabla 7 con algunas de sus propiedades.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 8. Propiedades de las fases móviles más comunes

Disolvente	Índice de Polaridad	Barrera UV (nm)	Índice de Refracción	T Ebullición (ºC)	Viscosidad (cP)
Acetona	5,1	330	1.359	56,3	0,36
Acetonitrilo	5,8	190	1.341	81,6	0,38
Cloroformo	4,1	245	1.443	61,1	0,57
DMSO	7,2	268	1.478	189	2,24
Acetato de Etilo	4,4	256	1.370	77,1	0,45
Hexano	0,0	200	1.375	69	0,31
Heptano	0,0	200	1.387	98	0,50
Metanol	5,1	205	1.326	64,7	0,55
THF	4,0	212	1,405	66	0,55
Tolueno	2,4	284	1,494	110,6	0,59
o-Xileno	2,5	288	1.500	144,4	0,81
Agua	10,2	190	1,333	100	1,0

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Una de las características de la fase móvil que tiene mayor importancia es la polaridad, ya que a través de ella se pueden predecir las interacciones que los analitos pueden tener con la fase móvil, el disolvente y la fase estacionaria. Se han desarrollado varios índices para describir cuantitativamente la polaridad de los disolventes, el más útil es el índice de polaridad desarrollado por Snyder esta es la resultante de todas las propiedades químicas como son las fuerzas dispersivas, la capacidad aceptora o donadora de protones y el momento bipolar de una molécula. En la Figura 18 se representa un diagrama triangular desarrollado por Snyder para la elección de solventes en función de su selectividad.

En HPLC, La elección de la fase móvil es un factor importante y está limitada a la columna. La distinción más importante se da entre las cromatografías de fase normal y reversa. Las fases móviles empleados en fase normal están constituidas por solvente apolares como iso-octano y hexano y en fase reversa se emplean mezclas de disolventes polares como agua, acetonitrilo y etanol. Además en los sistemas de HPLC se puede trabajar de manera isocrática o en gradiente. En la forma isocrática, la composición de la fase móvil permanece constante a lo largo de todo el análisis. Cuando se trabaja en gradiente, la composición de la fase móvil es variada poco a poco a lo largo del análisis.

www.bdigital.ula.ve

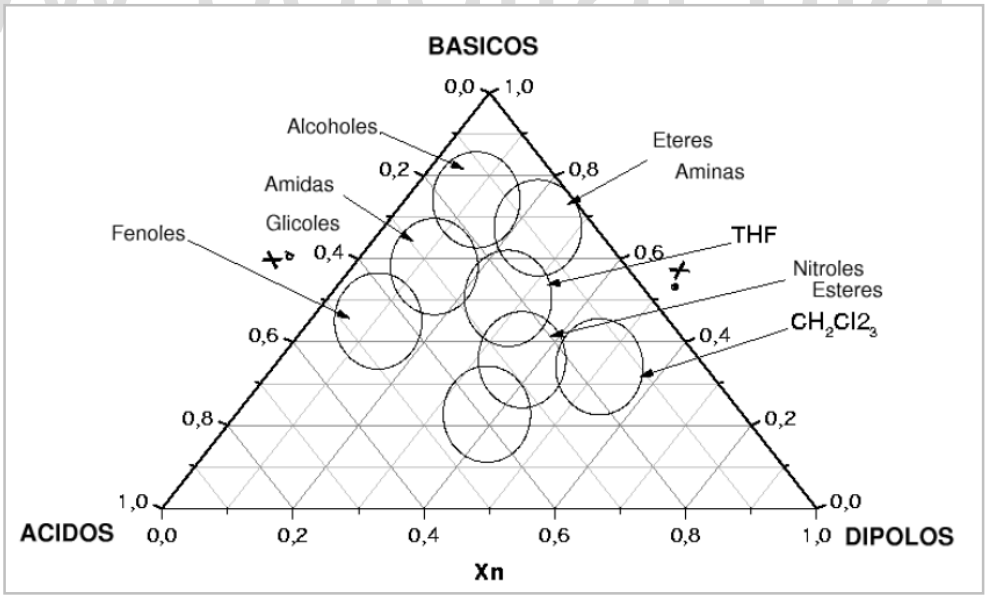


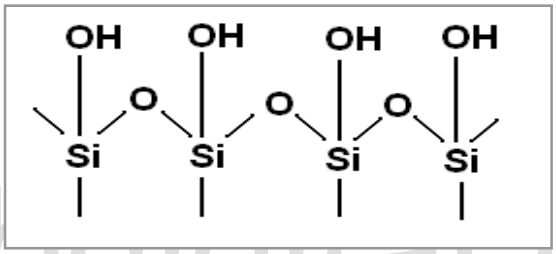
Figura 21. Diagrama Triangular desarrollado por Snyder

Fase estacionaria. En HPLC, la fase estacionaria se encuentra empacada en columnas de acero inoxidable o plástico que poseen una longitud entre 10 y 30 cm con un diámetro interno

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

uniforme de 4 a 10mm, rellenos con partículas de tamaño aproximadamente a 5 µm. La tendencia hoy en día es emplear columnas de menor longitud entre 3 a 7,5 cm y diámetro interno que oscilan entre 1 y 4,6 mm, con rellenos partícula de tamaño muy pequeñas (3 o 5 µm) para disminuir los tiempos de análisis. En muchas ocasiones se utilizan precolumnas para aumentar la vida de la columna analítica, estas eliminan los contaminantes que se unen irreversiblemente a la fase estacionaria. En función de la fase estacionaria, en HPLC se puede clasificar en:

Cromatografía de Adsorción: en este tipo de cromatografía la fase estacionaria es la superficie de un sólido polar finamente dividido. Con dicho empaquetamiento, el analito compite con la fase móvil por los sitios sobre la superficie del empaquetamiento y la retención se debe a las fuerzas de adsorción. La sílice y la alúmina finamente divididas son las únicas fases estacionarias de uso generalizado en la cromatografía de adsorción.



www.bibliotecaula.ve

Figura 22. Grupos silanol empleados como fase estacionaria en la cromatografía de adsorción

Cromatografía de Reparto: es el tipo de cromatografía líquida más utilizado, se puede subdividir en cromatografía líquido-líquido (la fase estacionaria liquida se retiene sobre la superficie del soporte por adsorción física) y cromatografía de fase unida químicamente (la fase estacionaria se une químicamente a la superficie del soporte). En la actualidad los métodos de fase unida químicamente son los que predominan debido a las desventajas del sistema líquido-líquido, una de esas desventajas es la pérdida de la fase estacionaria por disolución en fase móvil. La cromatografía de reparto se divide en “fase normal”, y “fase reversa”, cuyas principales diferencias radican en las distintas polaridades de sus fases estacionarias y móviles.

En cromatografía en fase normal, Se emplean como fases estacionarias compuestos polares, tales como amino-propil o ciano-propil soportados sobre partículas de sílice o alúmina, y como fase móvil se utilizan disolventes relativamente apolar como el hexano o el iso-propileter. La retención también (como la de fase reversa) tiene lugar en esa especie de capa líquida depositada químicamente, como consecuencia de la distinta solubilidad relativa en la fase

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

estacionaria (polar) y la fase móvil (apolar), donde el analito menos polar será el primero que se eluye y el más polar el último en eluir.

En cromatografía en fase reversa, su fase estacionaria mayormente consisten en grupos funcionales organosilanol unidos mediante enlace covalente a soportes de sílica gel apolar (con frecuencia un hidrocarburo), y la fase móvil polar (como el agua, metanol o acetonitrilo). En este caso, los compuestos más retenidos son los más apolares.

Cromatografía de intercambio iónico: está basada en la atracción entre iones del soluto y puntos cargados que existen en la fase estacionaria, en el caso de los intercambiadores aniónicos, los grupos cargados positivamente en la fase estacionaria atraen aniones del soluto. Los intercambiadores catiónicos contienen puntos cargados negativamente, unidos por enlace covalente a la fase estacionaria, que atraen cationes de soluto. Como fase estacionaria se emplean resinas las cuales son partículas amorfas de material orgánico. Las resinas de poliestireno, usadas en intercambiadores iónicos se clasifican en ácidos o básicos, fuertes o débiles.

www.bdigital.ula.ve

Cromatografía de exclusión por tamaño: o cromatografía sobre geles es una técnica que se aplica particularmente a especies de elevado peso molecular. La fase estacionaria está constituida por una matriz porosa, cuyos poros poseen un tamaño determinado y están completamente llenos con el disolvente usado como fase móvil. Las moléculas de soluto que tienen diámetros significativamente menores que los poros pueden penetrar en ellos y, de esta manera, ser retenidos durante un cierto tiempo, mientras que las moléculas que son más grandes que el tamaño medio de los poros del relleno son excluidas, y, de esta forma, no se retienen, siendo eluídas en primer lugar.

Detectores. Son dispositivos que permiten identificar cada uno de los componentes de la muestra a la salida de la columna cromatográfica[36]. Algunos detectores son universales, es decir que son sensibles a prácticamente todos los compuestos que eluyen de la columna. Por otro lado, hay detectores selectivos que son sensibles solo a compuestos específicos. Entre los detectores empleados en HPLC están:

Detector de índice de refracción (RID, por sus siglas en inglés, *refractive index detector*): Este detector mide la diferencia de índice de refracción entre el solvente puro y el solvente que contiene la muestra. Es un detector universal, no es destructivo y responde a la presencia de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

todos los solutos. Entre las desventajas se encuentra que es muy poco sensible, lo cual limita su campo de aplicación y es muy afectado por cambios de temperatura. Tampoco puede utilizarse en sistemas de gradiente porque el cambio de la composición de la fase móvil se acompaña del cambio de su índice de refracción. Como consecuencia, no puede estabilizarse la línea de base[36].

Detectores de absorción UV: Se basa en el análisis de la cantidad de radiación electromagnética, en el rango de longitudes de onda del ultravioleta (190- 350 nm), que puede absorber una muestra en función de la cantidad de sustancia presente. Estos detectores poseen buena sensibilidad permitiendo detectar analitos en el orden de los nanogramos. No es destructivo y puede emplearse con gradientes de solventes, con la única limitación de que éstos sean transparentes en la longitud de onda de trabajo[60]. Se utiliza habitualmente en la determinación cuantitativa de soluciones de iones metálicos de transición y compuestos orgánicos muy conjugados[60,61].

Detector Evaporativo de Luz Dispersa (ELSD, por sus siglas en inglés, *evaporative light scattering detector*): Este tipo de detector funciona mediante la medición de la luz dispersada por las partículas sólidas de soluto que quedan después de la nebulización y evaporación de la fase móvil. Debido a que la fase móvil es evaporada con una corriente de nitrógeno o aire antes de que tenga lugar la detección, se eliminan los frentes de solvente y se mantiene estable la línea base durante los gradientes, tampoco se ve afectada a los cambios de temperatura. Su respuesta es dependiente de la concentración del analito y detecta cualquier compuesto menos volátil que la fase móvil, también su respuesta es independientemente de su capacidad de absorber luz ultavioleta[62] es por esto que se emplean generalmente en la detección de compuestos que no posee grupos cromóforos.

www.bdigital.ula.ve

Antecedentes

A.E Borgund y Colaboradores (2007)[63], desarrollaron un método por HPLC usando cromatografía en fase normal para separar en cuatro fracciones los extractos ácidos orgánicos presentes en petróleo de la siguiente manera: compuestos no polares, ácidos carboxílicos saturados, fenoles y ácidos polifuncionales (Figura 23); para ello utilizaron como fase estacionaria columnas columnas ciano y como fase móvil diseñaron un programa de elución en gradiente como se muestra en la tabla 9:

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 9. Programa de elución en gradiente diseñado por A.E borgund y colaboradores

Tiempo (min)	Hexano (% $^{v}/_{v}$)	DCM (% $^{v}/_{v}$)	Metanol (% $^{v}/_{v}$)
0	97	3	-
10	97	3	-
20	70	30	-
35	40	55	5
40	-	100	-
50	97	3	-

Como detectores emplearon: un ELSD (temperatura de operación 40°C, gas nebulizante: nitrógeno) y un detector UV para la identificación de cada muestra. Concluyeron que el método descrito es simple y rápido, y complementa los métodos existentes para separar los ácidos en el crudo. Sin embargo, las fracciones siguen siendo muy complejas para ser identificados por sus componentes individuales, pero son adecuadas para ser comparadas con los perfiles ácidos de diferentes crudos.

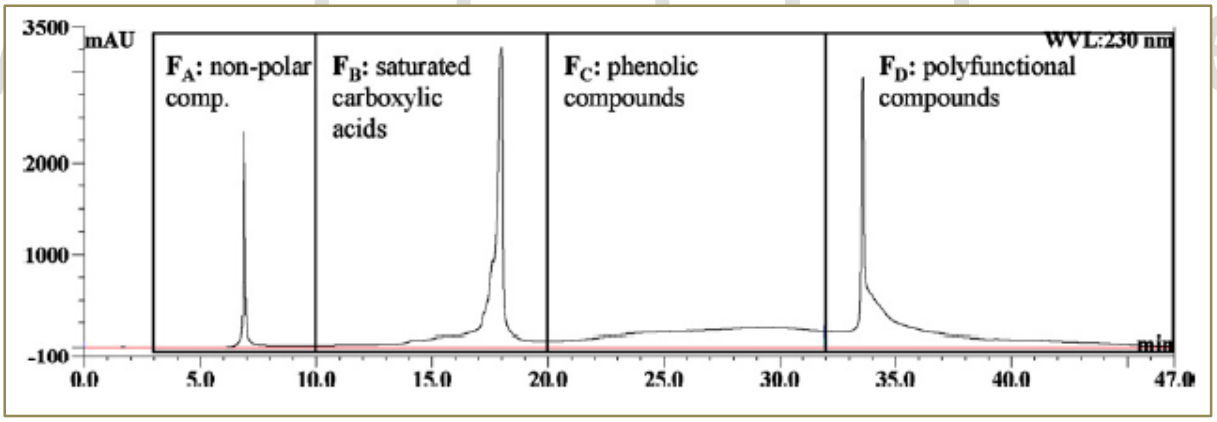


Figura 23. Cromatograma obtenido por A.E Borgund y Col

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

3. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

3.1 Hipótesis

Por su condición de mezcla, los crudos y en especial los del tipo pesado y extrapesado representan muestras químicamente complejas cuando se requiere su caracterización, es por esto que la combinación de métodos de extracción en conjunto con métodos cromatográficos permite aislar e identificar especies ácidas orgánicas presentes en un crudo extrapesado, haciendo posible generar información más precisa sobre la composición de los mismos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Realizar un estudio exploratorio para evaluar las especies ácidas orgánicas presentes en el crudo Carabobo de la Faja Petrolífera del Orinoco.

4.2 Objetivos específicos

www.bdigital.ula.ve

- Diseñar un método de extracción que permita aislar especies ácidas orgánicas en el crudo Carabobo utilizando métodos de extracción en fase sólida y/o extracción Soxhlet.
- Analizar los extractos ácidos aislados del crudo empleando GC-MS, en apoyo con espectrometría infrarrojo.
- Desarrollar un método por HPLC que permita complementar el análisis por GC-MS de los extractos ácidos orgánicos.

5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

A continuación se señalan los solventes, reactivos, equipos y materiales empleados para la elaboración del trabajo de investigación, de igual manera, se da a conocer el origen de la muestra de crudo.

5.1 Solventes y Reactivos

El trabajo experimental requirió de solventes orgánicos y diferentes reactivos. La Tabla 10 muestra una lista de ellos, con su marca y grado de pureza.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 10. Solventes y Reactivos empleados

Solvente ó Reactivo	Marca	Pureza
Cloroformo	Merck	Grado HPLC
2-Propanol (IPA)	Merck	Grado HPLC
Ácido fórmico	Riedel de Haën	98 %
Diclorometano	Fisher Scientific	Grado HPLC
Metanol	Sigma Aldrich	Grado HPLC
Ciclohexano	Sigma Aldrich	Grado HPLC
N-pentano	Merck	Grado HPLC
Éter dietilico	Riedel de Häen	Alta pureza
1-Propanol	Merck	Grado HPLC
Ácido Clorhidrico	Riedel de Häen	37 %
Ácido fórmico	Riedel de Haën	98 %
Bicarbonato de Sodio	Riedel de Haën	-
Resina AG 1-X8 (SAX)	Bio Rad (400) Mesh	-
Hidróxido de Potasio	J.T. Baker	-
Sílica gel	Sigma Aldrich (100-200) Mesh	-
Fenol	J.T Baker	99 %
Ácido octanoico	Sigma Aldrich	99 %
Ácido benzoico	Sigma Aldrich	99.5 %

www.bdigital.ula.ve

5.2 Materiales y Equipos

5.2.1 Sistema de extracción Soxhlet.

El sistema de extracción Soxhlet estuvo constituido por un condensador de vidrio, una columna Soxhlet y un balón de recolección (Marca Pyrex). Para llevar a cabo el método se emplearon dedales de celulosa (Marca Whatman) y una manta de calentamiento (Marca Glas-Col). El sistema requirió de un recirculador para su refrigeración (Marca Huber). En la Figura 24 se representa el equipo de extracción Soxhlet empleado.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Figura 24. Sistema de extracción Soxhlet

5.2.2 Equipo de extracción en fase sólida.

El sistema para SPE (Figura 25) incluyó una bomba de succión marca Buchi Modelo V-700, tuberías de Teflón (Marca Supelco), conectores PTFE. Kitasatos de vidrio, marca Pyrex. Cartuchos de polipropileno, marca Alltech.

www.bdigital.ula.ve

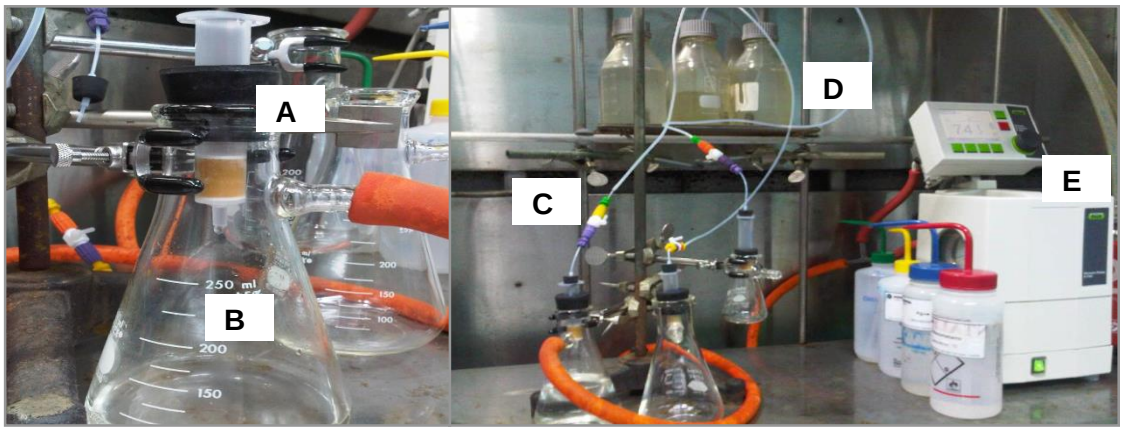


Figura 25. Equipo para SPE. A: cartucho de polipropileno. B: Kitasato. C: conector PTFE. D: tuberías de teflón. E: bomba de succión

5.2.3 GC-MS marca Agilent Technologies modelo 6890N-5973Inert

Se empleó un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies modelo 6890N con detector selectivo de masas modelo 5973Inert para la caracterización de los extractos ácidos, el

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

cual incluyó, un autoinyector Agilent modelo 7683A, una bandeja para 100 viales de la misma marca y un computador para el manejo del software MSD ChemStation. Ver Figura 26.

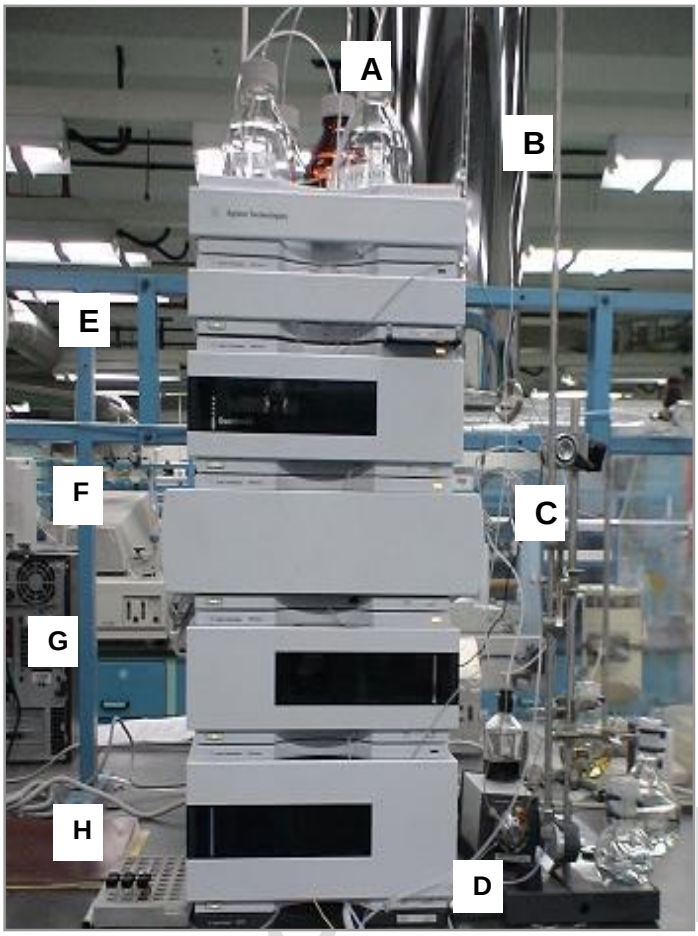
Figura 26. Cromatógrafo de gases Agilent 6890N con Detector Selectivo de Masas 5973Inert

www.bdigital.ula.ve

5.2.4 HPLC Marca Agilent Technologies Modelo 1200 Series.

El sistema HPLC empleado en este trabajo es de la marca Agilent Technologies Modelo 1200 Series que se encuentra constituido por los siguientes módulos: reservorio para solventes, desgasificador de solventes al vacío, bomba cuaternaria (400 Bar de presión máxima), inyector manual, compartimiento de columna termostatizada, detector de longitud de onda variable (VWD, por sus siglas en inglés, *Variable Wavelenght Detector*), detector de índice de refracción (RID, por sus siglas en inglés, *Refractive Index Detector*), válvula de selección y computador para el manejo del software Agilent ChemStation Rev. B.04.02. Ver Figura 27.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual



www.bdigital.ula.ve

Figura 27. Cromatógrafo Agilent HPLC 1200. A: Reservorio de solventes. B: Columna. C: Inyector manual. D: Válvula de recolección. E: Desgasificador. F: Bomba. G: Horno. H: Detectores (RID y VWD)

5.3 Muestras

Las muestras en estudio corresponden a crudos extrapesados vírgenes, provenientes de los campos Carabobo, Junín y Ayacucho de la FPO.

5.4 Plan de Trabajo

La estrategia para llevar a cabo los objetivos planteados en este trabajo se dividió en cuatro etapas. En primer lugar, se planteó conocer las características fisicoquímicas principales de los crudos de la FPO, esto se logró a través del análisis SARA, la determinación de los grados API y el número total de ácidos (TAN). En segundo lugar, se desarrolló el tratamiento adecuado de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

muestra que permitió extraer de forma selectiva a las especies ácidas presentes en el crudo. En tercer lugar, se identificó dichas especies a través del desarrollo de una metodología por GC-MS. Finalmente, se desarrolló una metodología para la separación por especias acidas orgánicas a través de HPLC que complemente los resultados por GC-MS.

5.4.1 Determinación de las propiedades fisicoquímicas

Determinación de los grados API

Para la determinación de los grados API a las muestras en estudio, se empleó el método del picnómetro que sigue el procedimiento experimental de la norma ASTM-D-70-09[64]. Este método utiliza un picnómetro de vidrio de forma cónica con capacidad de 30 mL.

Determinación de la acidez total del crudo

Los crudos de la FPO se analizaron previamente para conocer su acidez total del crudo empleando la norma ASTM D-664-11[65], dicha norma se basa en la determinación de número ácido total de productos del petróleo por titulación potenciométrica. El procedimiento aplicado se describe en la norma antes mencionada. En la Figura 28 se muestra el equipo utilizado para la realización de este análisis.

www.bdigital.ula.ve

Figura 28. Equipo utilizado para la determinación de número ácido total

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

5.4.2 Separación de las fracciones Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos de los crudos de la FPO

Los crudos provenientes de la FPO se separaron y cuantificaron en sus fracciones SARA. Para ello, se empleó el método de fraccionamiento SARA establecido en la norma del Instituto Francés del Petróleo (IFP 9305), el cual se emplea en PDVSA-Intevep como una de las metodologías para la separación de crudos. En esta norma usa como técnica de separación la cromatografía líquida de adsorción, con una previa desasfaltenización del crudo.

Desasfaltenización del crudo.

Con la finalidad de precipitar los asfaltenos de la muestra de crudo y así separarlo en dos fracciones: asfaltenos y maltenos, se realizó lo siguiente:

En un vaso de precipitado se pesó entre 1,6 y 3,0 g de muestra de crudo y se disolvió en 50 mL de n-Heptano por cada gramo de muestra, y se calentó la mezcla en un baño a 80°C con agitación constante por 20 min. Posteriormente, se pasó la muestra diluida de crudo en un equipo de filtración, a través de una membrana millipore de tal manera que los asfaltenos precipiten y queden retenidos en la membrana mientras que los maltenos queden disueltos con n-Heptano. Luego se lava la membrana con 100 mL de n-Heptano caliente (80°C), para recuperar todos los maltenos que hayan quedado retenidos. Después se seca la membrana con los asfaltenos a 60°C en un horno por 30 min. Finalmente se deja enfriar la membrana hasta temperatura ambiente y se pesan los asfaltenos.

Los maltenos disueltos con n-Heptano pasan a un balón fondo redondo y se evapora el solvente con el uso de un rotaevaporador a 40°C en corriente de nitrógeno a 1 mL/ min.

Separación de los maltenos por cromatografía liquida de adsorción

La segunda etapa de fraccionamiento es la separación de los maltenos en los tres grupos de hidrocarburos. El procedimiento a seguir para la preparación del sistema fue el siguiente:

Preparación de las muestras. Se pesó aproximadamente 1 gramo de maltenos y se disolvió con n-Heptano en un balón aforado de 10 mL y se llevó al volumen de aforo. La mezcla se colocó en un sonicador hasta el momento previo de la inyección.

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Preparación de la fase móvil. En unos reservorios de solvente se colocan por separado 500 mL de n-Heptano, 500 mL de metanol, 500 mL de tolueno y 500 mL de diclorometano y se colocan en un sonicador por aproximadamente 20 min para desgasificar los solventes.

Preparación de la columna cromatográfica preparativa. Se pesaron por separado 20 g de sílica gel y 35 g de alúmina y se activaron durante 16 horas a temperatura constante (180°C), usando un horno de calentamiento. Luego se dejaron enfriar los adsorbentes en un desecador. Posteriormente se empaquetó la columna cromatográfica, empezando con sílica gel y luego con alúmina.

Separación cromatográfica de las muestras de crudo de la FPO. En el equipo HPLC Agilent Technologies (Figura 29) se ajustó la columna empacada con sílica y alumina a la salida del inyector y se insertó a través de ella n-Heptano con un flujo constante de 2 mL/min por un tiempo aproximado de 30 min, con la finalidad de acondicionar la columna. Antes de dar inicio a la separación se verificó que el sistema no presentase fugas. Una vez verificado todo el sistema, la muestra preparada se retiró del sonicador y se procedió a llenar el Loop de inyección de 4mL, empleando para ello una válvula de inyección manual y una jeringa de 10 mL.

www.bdigital.ula.ve

Figura 29. Equipo HPLC Agilent Technologies Series 1200

La secuencia de elución para la separación de las tres fracciones fue de esta manera: n-Heptano para la elución de los saturados, 2:1 n-Heptano/tolueno para la elución de los aromáticos y 1:1:1 tolueno/diclorometano/metanol para la elución de las resinas.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Cada fracción se recolectó en balones de fondo plano previamente pesado a través de una válvula de recolección de 6 canales. Posteriormente todos los solventes son removidos completamente a través de un rotaevaporador a temperatura constante (60°C) empleando una corriente de nitrógeno de 1 mL/min, esto se verificó llevando los balones a peso constante.

5.4.3 Selección del método de extracción de ácidos orgánicos para el crudo Carabobo.

Para la extracción de las especies ácidas orgánicas presentes en el crudo Carabobo, se evaluó el uso de la extracción sólido-líquido (extracción soxhlet) y la extracción en fase sólida, y a partir de los resultados obtenidos en esta etapa, se definió la metodología a emplear. A continuación se describen cada uno de los métodos de extracción empleados.

Método de extracción de ácidos orgánicos a través de la extracción Soxhlet

Por medio de este método se aislaron las especies acidas orgánicas presentes en el crudo a través de un extractor soxhlet, empleando para ello sílice gel modificado con hidróxido de potasio depositado en el dedal de celulosa. Esta metodología se reportó inicialmente por Ramljak Z. y col (1977; p. 1222)[66] y por Acevedo (2007; p. 83)[67] con algunas modificaciones. El procedimiento experimental fue el siguiente:

www.bdigital.ula.ve

Preparación de la fase Estacionaria. En una balanza se pesaron aproximadamente 10 g de sílice gel la cual se activó durante 16 horas a temperatura constante de 180 ºC usando un horno de calentamiento, para luego enfriar este adsorbente en un desecador hasta temperatura ambiente. Luego se disolvió la sílice en 20 mL de cloroformo (se forma una suspensión). Por otro lado, se preparó una solución de 4 $\%^{m}/_{v}$ de hidróxido de potasio en 250 mL de isopropanol. De esta solución, se tomaron 25 mL, los cuales se colocaron en una plancha de calentamiento a 60 ºC con agitación constante por 10 minutos. Esta solución se mezcló con la suspensión de sílice gel previamente preparado en una relación de 1:10, se mantuvo en agitación constante durante 15 minutos a 60 ºC. Finalmente, se transfirió la mezcla al dedal de celulosa y se insertó en el extractor Soxhlet tal y como se muestra en la Figura 24, se lavó la columna calentando moderadamente a 50ºC con 200 mL de $CHCl_3$ y se dejó en reflujo durante 15 minutos para eliminar el exceso de KOH.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Preparación de la muestra. Se pesó aproximadamente 1 g de muestra y se disolvió con Diclorometano en un balón de 10 mL y se llevó al aforo. La mezcla se colocó en un sonicador hasta el momento de su aplicación.

Extracción de la Fracción no ácida. Una vez introducida la muestra en el sistema soxhlet, se colocaron 200 mL de $CHCl_3$ en un balón de fondo redondo, se calentó moderadamente para alcanzar el reflujo durante 8 horas o hasta que el solvente que eluye de la columna se torne incoloro. Se evaporó el solvente contenido en el balón hasta sequedad empleando un rotavapor con bomba de vacío, la fracción resultante se reservó para su análisis por GC-MS.

Extracción de la Fracción ácida. Se extrajo la fracción retenida en la Sílice Gel modificada con 200 mL de una solución al 20% de ácido fórmico (HCOOH) en $CHCl_3$, se calentó moderadamente hasta alcanzar reflujo durante 8 horas o hasta que el solvente que eluye de la columna se torne incoloro. Una vez obtenida la fracción ácida se evaporó el 90% de solvente empleando un rotavapor, luego se lavó el residuo orgánico con agua varias veces hasta pH 5, con la finalidad de eliminar el exceso de HCOOH. Luego se secó con Sulfato de Magnesio ($MgSO_4$), se filtró y se evaporó el solvente al vacío para su análisis por GC-MS.

www.bdigital.ula.ve

Método de extracción de ácidos orgánicos a través de SPE

Se empleó como sorbente el AG 1 X-8, la cual es una resina polimérica de intercambio aniónico fuerte (SAX, por sus siglas en inglés, *Strong Anion Exchange*) cuya parte activa son aminas cuaternarias del tipo $R\text{-}CH_2N\text{-}(CH_3)_3$, la cual se encuentra dentro de un cartucho de polipropileno. El método que se propone en este trabajo sigue el procedimiento experimental a continuación:

Preparación de la muestra. Se pesó aproximadamente 1 gramo de muestra y se disolvió con diclorometano en un balón aforado de 10 mL y se llevó al volumen del aforo. La mezcla se colocó en un sonicador hasta el momento de su uso.

Activación/Acondicionamiento del sorbente y aplicación de la muestra. Un cartucho vacío de polipropileno de 6 mL se rellenó con aproximadamente 1 gramo de la resina de intercambio aniónico, se conectó a un sistema de extracción como se observa en la Figura 25. A través del sorbente se pasaron 25 mL de una solución buffer de $NaHCO_3/Na_2CO_3$ (1M)

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

para intercambiar el contraión original (Cl^-) por HCO_3^-. Luego, se lavó la resina con 35 mL de H_2O y 17 mL de metanol para eliminar cualquier exceso de aniones presentes en el sorbente. Se hizo pasar por el sorbente 50 mL de diclorometano y por último, se aplicó la muestra de manera tal que los compuestos acídicos queden retenidos en el sorbente.

Elución de los interferentes. Se percoló un volumen de 50 mL de diclorometano para eliminar los compuestos orgánicos no aniónicos. Posteriormente, el diclorometano es removido a través de un rotavapor a temperatura constante (60 °C) empleando una corriente de nitrógeno de 1 mL/min.

Elución de la fracción ácida. Se percoló un volumen de 17 mL de una solución de 2% de ácido fórmico en éter dietilico. Posteriormente, el solvente es removido a través de un rotavapor a temperatura constante (60 °C) empleando una corriente de nitrógeno de 1 mL/min, hasta llegar a peso constante.

5.4.4 Identificación de los ácidos orgánicos empleando GC-MS.

www.bdigital.ula.ve

Las fracciones de ácidos orgánicos obtenidos de los métodos de extracción (extracción Soxhlet y SPE) fueron analizadas en un GC-MS marca Agilent Technologies (Ver Figura 26). Como fase estacionaria se empleó una columna WCOT Ultimetal CP SIL PAH CB (25 m longitud x 0.25 mm ID y 0.12 µm de espesor de partícula). Todas las muestras fueron disueltas en diclorometano para evitar la saturación de la columna.

Para la cuantificación de los patrones de ácidos orgánicos se realizaron curvas de calibración a diferentes concentraciones y se realizó la detección de los iones primarios para cada compuesto (Modo SIM). Las condiciones cromatográficas tales como la temperatura del puerto de inyección, rampa de calentamiento del horno, relación del Split y las temperaturas son ajustadas mediante corridas sucesivas para así mejorar la resolución y eficiencia de la separación. Se realizaron inyecciones en Modo SCAN de los extractos de ácidos orgánicos del crudo Carabobo para identificar los compuestos acídicos presentes, empleando para ello una biblioteca de espectros de masas NIST Versión 2.0, año 2005. Esta contiene aproximadamente 140.000 espectros y trabaja con un algoritmo que compara las abundancias del espectro de masas del compuesto desconocido y la de los espectros de referencia, determinando la semejanza de los espectros como coincidencia espectral expresada en la escala del 0 al 100, donde el ultimo valor representa una coincidencia absoluta.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 11. Condiciones cromatográficas para los patrones por GC-MS

Dispositivo	Condiciones de Operación
Columna	Especificaciones: WCOT ULTIMETAL CP SIL PAH CB Dimensiones: 25 m x 0.25 mm; 0.12 µm Flujo constante: 1 mL/min (Helio)
Horno	Temperatura inicial: 60 C por 5 min Rampa de Calentamiento: 10 C/min Temperatura final: 300 C por 5 min Tiempo total de corrida: 34 min
Puerto de Inyección	Volumen de Inyección: 1 µL. Modo: Splitless. Temperatura: 280 C
Detector MS	Temperatura de la interface: 300 C Temperatura de la fuente: 230 C

5.4.5 Separación por especies ácidas de los extractos aislados del crudo Carabobo empleando HPLC

www.bdigital.ula.ve

Para complementar los resultados obtenidos a través de GC-MS, las fracciones de ácidos orgánicos obtenidos de los métodos de extracción fueron analizadas en un HPLC, marca Agilent Technologies modelo 1200 Series (Ver Figura 27) y de esta manera separar las fracciones en grupos de especies ácidas orgánicas. Para esto se diseñó una metodología, evaluando diferentes proporciones de mezclas de fases móviles entre las que destaca la constituida por Acetonitrilo/Agua. Se evaluaron los sistemas en forma isocrática y en gradiente, además se evaluaron dos fases estacionarias diferentes octilsilano RP-C8 y Ciano enlazadas RP-CN, hasta establecer el método óptimo para el estudio de mezclas de ácidos orgánicos. Se inyectaron alícuotas de 9,8 µL de patrones en el cromatógrafo líquido (todas las muestras se filtraron antes de ser inyectadas en el cromatógrafo con membranas de filtración de nylon de 0,45 µm millipore). Se emplearon diferentes flujos y diferentes temperaturas, también se variaron los parámetros de los detectores (UV, RID y ELSD) hasta encontrar las condiciones óptimas de separación.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 12. Condiciones cromatográficas por HPLC

Dispositivo	Condiciones de operación
Fase móvil	60% de ACN y 40% de H_2O
Columna	Columna Zorbax CN 4,6 x 250 mm, 5µ. Pre-columna (CN)
Temperatura	25 °C
Flujo	1 mL/min
Tiempo de análisis	15 min
Detector de onda variable	280 nm
Detector RID	Temperatura del detector = 25 °C
	Polaridad: Positiva

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización del crudo

www.bdigital.ula.ve

La extracción químicamente selectiva de especies presentes en un crudo, es un proceso complejo de alcanzar, razón por la cual la simplificación de la matriz es por lo general la opción que la mayoría de los laboratorios de desarrollo de métodos toman como primer paso para llevar a cabo un análisis. Para lograr esto, antes del desarrollo de un método es recomendable conocer algunas propiedades que caracterizan a los crudos (Gravedad API, TAN, SARA) ya que con esta información es posible confirmar que los mismos son adecuados para lograr los objetivos de este trabajo y así plantearse alternativas más efectivas que permitan aislar las especies ácidas.

6.1.1 Grados API y Número Total de Acido (TAN) de los crudos

Se determinó la gravedad API a los crudos de la FPO: Carabobo, Ayacucho y Junín; los resultados se encuentran en la Tabla 13. De acuerdo a los resultados estos crudos son clasificados como crudos extrapesados. De igual manera, se muestran en la Tabla 13 los resultados del análisis TAN para los mismos crudos, de acuerdo a los resultados todos los valores son mayores a 0,5 mg KOH/g de crudo, lo cual, los clasifica como crudos ácidos.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 13. Número Total de Acido (TAN) y Densidad de grados API para los crudos de la FPO

Tipo de Crudo	API	TAN (mg KOH/g)
Crudo Carabobo	8,4	2,34
Crudo Ayacucho	8,2	1,41
Crudo Junín	8,7	3,83

6.1.2 Fraccionamiento SARA-HPLC de los crudos

Los tres crudos de la FPO fueron fraccionados en cuatro grupos de hidrocarburos mediante el fraccionamiento SARA, bajo el procedimiento experimental establecido por el IFP llamado IFP-9305 descrito en la Sección 5.4.2. En la Tabla 14 se encuentran los resultados obtenidos expresados en % en peso.

Tabla 14. Resultados de las fracciones SARA de los crudos en estudio

Tipo de crudo	% Saturados	% Aromáticos	% Resinas	% Asfaltenos
Crudo Carabobo	16,95	38,53	28,77	15,75
Crudo Ayacucho	16,53	39,68	29,68	14,12
Crudo Junín	14,66	41,90	33,25	10,20

www.bdigital.ula.ve

Los resultados del análisis SARA muestran que los crudos contienen elevado porcentaje de aromáticos, resinas y asfaltenos. Estas fracciones en general están compuestas por heteroátomos, por lo que es de esperar que estos crudos contengan grupos oxígenados donde parte de ellos pueden ser asociados a especies ácidas. Tomando en cuenta esta información y los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico (SARA, TAN, Gravedad API), estos crudos son adecuados para cumplir con el objetivo de extraer ácidos, es decir, puede confirmarse que estos crudos contienen ácidos y pueden ser utilizados para el desarrollo de método propuesto en este trabajo.

En vista de que los resultados fisicoquímicos muestran que el crudo Carabobo posee características similares a los crudos Ayacucho y Junín, y a que existe más información sobre este crudo en la literatura con la que se puede relacionar los resultados obtenidos, la etapa de desarrollo de métodos se llevara a cabo empleando el crudo Carabobo, asumiendo por las

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

razones expuestas que el método resultante puede ser aplicado al resto de los crudos mencionados.

6.2 Extracción de ácidos orgánicos

A partir de una revisión bibliográfica empleando dos de las más importantes bases de datos disponibles (Science Direct y ACS Publications), se encontró una variedad de métodos para la extracción de ácidos orgánicos en crudos (Ver figura 30). Con base en las publicaciones encontradas, se analizaron aspectos como: mecanismo de extracción, selectividad del método, tiempo de ejecución, rendimiento de la extracción y acoplamiento de estos métodos con GC-MS así como con HPLC. De este modo se seleccionaron dos tipos de metodologías a evaluar para la extracción de ácidos orgánicos presentes en el crudo Carabobo. De manera que, la SPE y la extracción Soxhlet fueron los métodos seleccionados como tratamiento de muestra para la extracción de los ácidos en el crudo Carabobo en este trabajo. Todos los extractos obtenidos, se monitorearon por medio de un análisis GC-MS.

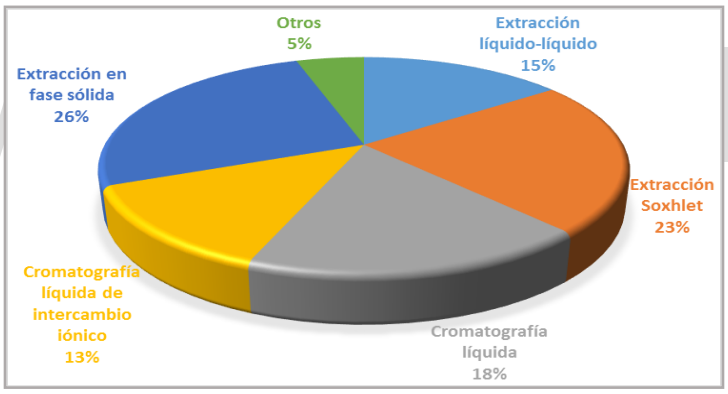


Figura 30. Diferentes métodos empleados para la extracción de ácidos en el crudo

6.2.1 Extracción de ácidos orgánicos empleando extracción Soxhlet

La metodología experimental para la extracción de los ácidos orgánicos empleando extracción Soxhlet se describe en la sección 5.4.3. El desarrollo de la metodología y sus evaluaciones se iniciaron empleando una muestra sintética, la cual fue preparada empleando aceite vassa como matriz (simula matriz hidrocarbonada) y agregando cantidades conocidas de ácido octanoico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Recuperación

En primer lugar, se evaluó la recuperación del método. Para ello, se prepararon muestras sintéticas de ácido octanoico en aceite vassa a diferentes concentraciones, las cuales se observan en la Tabla 15. Las fracciones obtenidas fueron analizadas empleando el GC-MS, para ello se realizó una curva de calibración con el mencionado patrón (ver Apéndice 6.1.1). En la siguiente Tabla se encuentran los resultados obtenidos de las extracciones.

Tabla 15. Extracción del ácido octanoico en matriz sintética empleando extracción soxhlet

Masa inicial (mg)	Masa recuperada en % $^{p}/_{p}$	Masa que no se retiene en % $^{p}/_{p}$	Masa retenida en la sílica en % $^{p}/_{p}$
48,9	32	32	36
99,4	56	14,1	30
152,8	61	21	18
204,9	55	35	10
249,9	79	11	10

www.bdigital.ula.ve

Tal y como se observa en la Tabla 15, el mayor porcentaje de recuperación fue de 79%, cuando la cantidad de acido inyectada es de 249,9 mg es decir, cerca del 80% de ácido queda retenido en la sílice y logra ser extraído (apróximadamente 200 mg). Hasta la concentracion maxima de acido octanoico agregada no se observa un punto de saturación del adsorbente, esto significa que se puede trabajar con cantidades mayores de muestra. Existe una pérdida de analito, entre 10 y 36%, como consecuencia de la fuerte adsorción del ácido octanoico en la sílice modificada, retencion que no pudo ser vencida por la fuerza del eluyente utilizado, en este caso acido formico al 20%.

Por otro lado, se evaluó el factor de recuperación de la silice modificada y la influencia de la acidez del analito, para esto se adicionó fenol a la muestra sintetica. El fenol es de la familia de los alcoholes y es un ácido orgánico más débil que el ácido octanoico (el pKa del fenol es 10 y el pKa del ácido octanoico es 4.89)[68]. Se comparó el factor de recuperación del ácido octanoico con la del fenol empleando extraccion Soxhlet, agregando una concentración conocida de ambos ácidos. La curva de calibracion del Fenol se encuentra en el Apendice 6.1.3. Cada muestra se trató por triplicado bajo condiciones de repetibilidad y los resultados se muestran en las Tablas 16 y 17.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 16. Extracción del ácido octanoico en una mezcla de ácidos orgánicos en matriz sintética empleando extracción soxhlet

Mediciones	Masa inicial (mg)	Masa recuperada (mg)	Factor de Recuperación % $^{p}/_{p}$
1	53,8	16	29,7
2	55,4	14	25,3
3	54,7	17	31,1
Media	54,63	15,67	28,7
S	0,80	1,53	3,02

Tabla 17. Extracción del fenol en una mezcla de ácidos orgánicos en matriz sintética empleando extracción soxhlet

Mediciones	Masa inicial (mg)	Masa recuperada (mg)	Factor de Recuperación % $^{p}/_{p}$
1	49,7	8	16,1
2	50,9	7	13,7
3	51,2	8	15,6
Media	50,6	7,66	15,1
S	0,80	0,57	1,27

A partir de los resultados obtenidos se observa que solo el 15,1% del fenol es retenido por el adsorbente. Esto significa, que mientras mayor es la fuerza de acidez de los analitos, estos serán más retenidos por el adsorbente, lo que implica, que los silicatos de potasio (formados en la modificación de la sílice) son probablemente selectivos a ácidos orgánicos fuertes del tipo carboxílico. De acuerdo a Ramljak Z. y col en su publicación[11]quienes emplearon una metodología similar a la extracción Soxhlet, el fenol eluye con cloroformo conjuntamente con los compuestos hidrocarbonados separando de esta manera los ácidos en dos fracciones (ácidos orgánicos fuertes y ácidos orgánicos débiles).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

6.2.2 Método de extracción de ácidos orgánicos empleando SPE

La metodología experimental para la extracción de los ácidos empleando SPE se describe en la sección 4.4.3. De igual manera que en el método anterior, se estudió el factor de recuperación de los ácidos en matriz sintética.

Recuperación

Se empleó ácido octanoico a diferentes concentraciones como se observa en la Tabla 18. Los eluatos se analizaron por GC-MS.

Tabla 18. Extracción del ácido octanoico en matriz sintética empleando SPE

Masa inicial (mg)	Masa recuperada en % $^{p}/_{p}$	Masa que no se retiene en % $^{p}/_{p}$	Masa retenida en el sorbente % $^{p}/_{p}$
48,7	73,49	0	26,50
99,4	63,52	4,53	31,96
150,9	41,93	3,45	54,60
167,1	39,41	6,30	54,28
171,2	36,79	6,43	56,76
184,6	33,98	6,78	59.22
199,6	33,31	13,42	53.26
249,3	26,33	11,74	59,95

www.bdigital.ula.ve

Como se observa en la Tabla 18, el porcentaje de recuperación más alto es de 73,49% cuando en el cartucho se aplica la cantidad inicial de 48,7 mg y una ligera disminución cuando se agrega cerca de 100 mg de muestra. A partir de este valor, el porcentaje de recuperación disminuye a medida de que la concentración de ácido octanoico aplicada en el cartucho aumenta, hasta llegar a un porcentaje de recuperación de 26,33%.

Con base en los resultados obtenidos se puede inferir que el sorbente tiene un límite de retención de analito que en consecuencia dependerá de la cantidad de muestra aplicada al cartucho y la cantidad de resina en el. Puesto que los ácidos ocupan todos los sitios activos disponibles para interactuar con las aminas cuaternarias, de esta manera ocurre su saturación y por esta razón los analitos en exceso no van a interactuar y se irán en los lavados y en las subsiguientes eluciones.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Adicionalmente, existe una pérdida de analito como consecuencia de su interacción irreversible en la resina. Por ejemplo, cuando se inyecta una cantidad entre 48 y 99 mg de ácido, la resina retendrá de forma irreversible cerca del 30% de la masa del analito. Asimismo, este comportamiento tendrá un máximo para masas superiores (en el orden del 57%).

Para evaluar el efecto de la matriz en el método se empleó en una segunda fase Diesel ASTM-2000, el cual está compuesto de una mezcla de hidrocarburos parafínicos, naftenicos y aromáticos. Para ello, se estudió el factor de recuperación, empleando el ácido octanoico a diferentes concentraciones disueltas en Diesel ASTM-2000 como se observa en la Tabla 19. Los eluatos se analizaron empleando la metodología de partida.

Tabla 19. Extracción del ácido octanoico en Diesel ASTM-2000 empleando SPE

Masa inicial (mg)	Masa recuperada en % $^{p}/_{p}$	Masa que no se retiene en % $^{p}/_{p}$	Masa retenida en el sorbente % $^{p}/_{p}$
49,6	69,43	0	30,57
99,6	48,67	14,90	36,43
149,2	33,72	7,58	58,7
162,4	30,39	6,48	63,6
170,2	29,91	6,48	63,61
179,6	27,75	6,97	65,28
202,6	24,22	11,35	64,43
248,3	19,91	19,31	60,78

www.bdigital.ula.ve

En este caso, se observa el mismo comportamiento obtenido con el ensayo empleando aceite vassa, con una disminución en el porcentaje de recuperación de los eluatos entre un 4 y 9 %; probablemente esta disminución se deba a especies ácidas aportadas por el Diesel que ocupan los sitios activos de la amina cuaternaria. De esta manera y a partir de estos resultados se puede inferir que para matrices menos complejas que el crudo y más complejas que el aceite vassa el efecto de matriz no es representativo. Sin embargo, esta afirmación no necesariamente se extiende al crudo, pero se puede tomar como una buena referencia, considerando la complejidad de este tipo de muestras dónde no existen patrones e información amplia de su composición. Los resultados obtenidos hasta ahora, señalan que la metodología de partida es una metodología con porcentaje de recuperación bajo, que no muestra efectos de matriz importante en muestras

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

de baja complejidad y que la selectividad de la resina es considerable como para ser empleada en el desarrollo.

Como ya se ha dicho, existen moléculas de analitos retenidas irreversiblemente en el sorbente, es por ello que se modificó la metodología, en este caso incrementando la concentración del ácido fórmico de 2% a 4%. Ahora bien, para evaluar esta nueva condición se emplearon los siguientes tipos de ácidos: ácido octanoico (pKa 4.89), acido benzoico (pKa 4.19)[69], 2-Quinolinethiol (pKa aproximado de 8) y fenol (pKa 10) bajo las mismas condiciones de análisis hasta ahora establecidas (empleando el aceite vassa como matriz sintética). Con el fin de comparar el factor de recuperación de los diferentes tipos de ácidos se agregó una concentración conocida de ellos. De igual manera, las curvas de calibración del ácido benzoico y 2-Quinolinethiol se encuentran en el Apéndice 6.1.2 y 6.1.4 respectivamente. Cada muestra se trató por triplicado bajo condiciones de repetibilidad y los resultados se muestran en las Tablas 20, 21, 22 y 23.

Tabla 20. Extracción del ácido octanoico en matriz sintética empleando SPE (4% de HCOOH)

Mediciones	Masa inicial (mg)	Masa recuperada (mg)	Factor de recuperación % $^{p}/_{p}$
1	100,3	90,7	90,42
2	100,2	90,8	90,61
3	100,3	90,3	90
Media	100,27	90,60	90,34
S	0,06	0,26	0,31

Tabla 21. Extracción del ácido benzoico en matriz sintética empleando SPE (4% de HCOOH)

Mediciones	Masa inicial (mg)	Masa recuperada (mg)	Factor de recuperación % $^{p}/_{p}$
1	100,6	57,5	57,5
2	100,4	56,2	56,14
3	100,1	58,7	58,64
Media	100,37	57,46	57,42
S	0,25	1,35	1,25

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 22. Extracción del 2-Quinolinethiol en matriz sintética empleando SPE (4% de HCOOH)

Mediciones	Masa inicial (mg)	Masa recuperada (mg)	Factor de recuperación % $^{p}/_{p}$
1	49,9	8,4	16,83
2	50,1	8,1	16,23
3	50,2	8,3	16,53
Media	50,06	8,26	16,53
S	0,15	0,15	0,3

Tabla 23. Extracción del fenol en matriz sintética empleando SPE (4% de HCOOH)

Mediciones	Masa inicial (mg)	Masa recuperada (mg)	Factor de recuperación % $^{p}/_{p}$
1	103,1	3,1	3
2	102,6	3,4	3,32
3	102,6	3,1	3,02
Media	102,76	3,20	3,11
S	0,29	0,17	0,17

www.bdigital.ula.ve

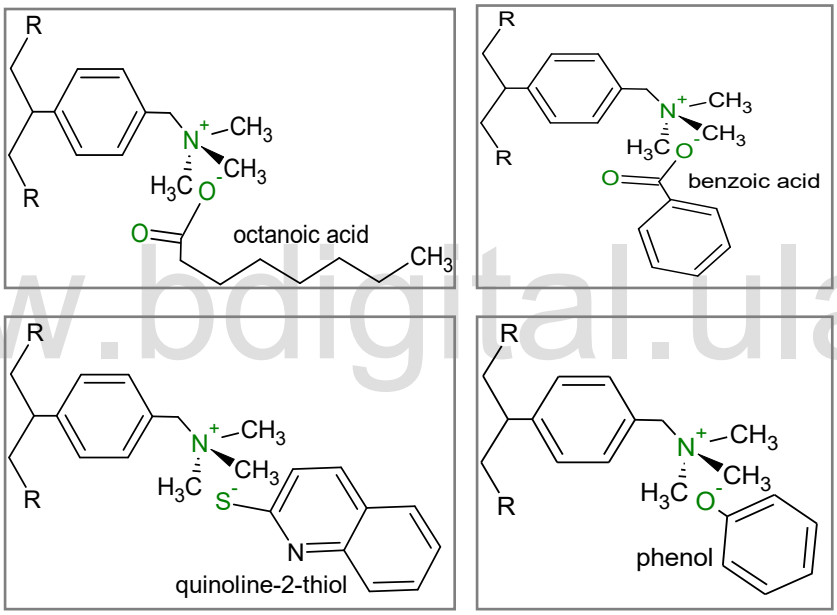
A partir de los resultados obtenidos observamos que el método muestra buena repetibilidad si se evalúan los valores de desviación estándar (S) para cada una de las muestras. Con esta modificación en la metodología se observa un aumento en el factor de recuperación. Por ejemplo, cuando se emplea 2% de ácido fórmico como eluyente, el porcentaje de recuperación para el ácido octanoico es de 73,49%; ahora, cuando se emplea 4% de ácido fórmico, se observa un aumento del porcentaje de recuperación hasta un 90,34%. Esto significa que con el aumento de la concentración del solvente de elución, la fuerza del mismo vence gran parte de las fuerzas electrostáticas ofrecidas por las aminas cuaternarias.

Por otro lado, para los demás ácidos estudiados como el ácido benzoico existe un factor de recuperación de un 57,42%, esto significa que a pesar de que el ácido benzoico (probablemente por efecto inductivo y de resonancia)[70] es un ácido más fuerte que el ácido octanoico, este no será retenido en mayor grado, entre otras cosas, debido al tamaño del anillo de la cadena

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

hidrocarbonada presente en el ácido benzoico, teniendo impedimento estérico para interactuar fácilmente con la resina aniónica, Ver Figura 31.

Para las especies como los tioles y fenoles, el factor de recuperación es relativamente más bajo en comparación con los ácidos carboxílicos estudiados, esto se debe principalmente a que estos poseen una acidez menor (pKa entre 8 y 10). Por ejemplo, se observa una recuperación de 16,53% para el 2-Quinolinethiol y para el Fenol una recuperación de 3.11%. Para el 2-Quinolinethiol se observa mayor recuperación, en este caso el azufre es un átomo de mayor tamaño que el oxígeno del fenol y es capaz de deslocalizar la carga mejor, así que un sulfuro es más estable que un alcóxido haciendo que este tenga mayor interacción con la resina y en consecuencia se observa mayor recuperación para este tipo de compuestos (ver Figura 31).



www.bdigital.ula.ve

Figura 31. Interacciones de la Resina SAX con los diferentes ácidos orgánicos en estudio

Selección de la metodología

Hasta este punto del trabajo, si comparamos los resultados obtenidos por extracción Soxhlet con SPE podemos ver que este último ofrece las ventajas como: una extracción selectiva de ácidos orgánicos en especial del tipo carboxílico, con mayor porcentaje de recuperación, fracciones limpias y con buena repetibilidad. También es un método rápido, con menor consumo de solventes. Adicionalmente, representa menor impacto en el ambiente, debido a que las resinas de intercambio son reusables y se pueden regenerar. En tal sentido, el método

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

seleccionado como tratamiento de muestra para la extracción de ácidos orgánicos presentes en los crudos de la FPO en este trabajo es el método de extracción en fase sólida o SPE, que se resumen en la Figura 32.

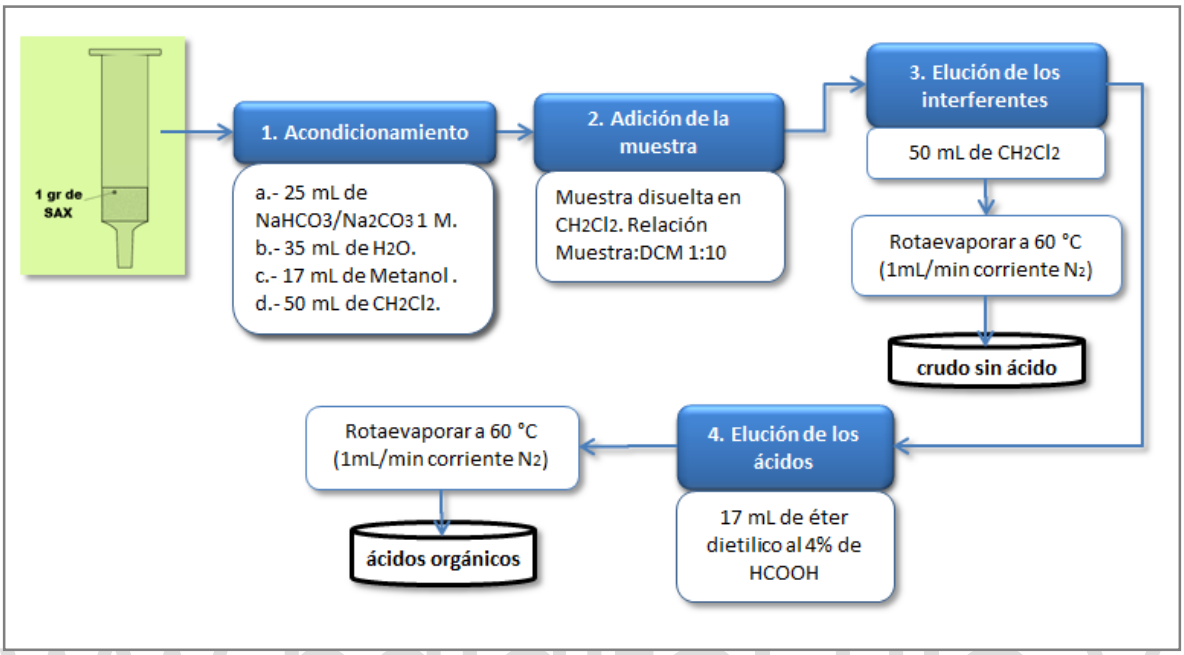


Figura 32. Método escogido como tratamiento de Muestra (SPE)

www.bdigital.ula.ve

6.2.3 Precisión del método de SPE

Los valores de TAN reportados en la Tabla 3 sirven entre otras cosas, estimar la cantidad de muestra que debe aplicarse a un cartucho por análisis cuando el analito es ácido. El crudo Carabobo contiene 2,34 mg de ácido por gramo de crudo de acuerdo con los resultados, y se ha determinado en este trabajo que un gramo de resina SAX produce buenos resultados cuando se aplican entre 50 y 99 mg del analito (ácido), se realizó el cálculo para lograr la extracción de la mayor cantidad de ácido posible del crudo tomando en cuenta las interferencias que ocupan sitios activos en el sorbente, sin comprometer la practicidad del método en cuanto a manipulación de muestra. Adicionalmente, no hay que perder de vista la intención de minimizar al máximo el uso de reactivos, materiales y generación de desechos. Pueden aplicarse entre 16 y 25 gr de muestra de un crudo que contiene entre 2 a 3 TAN cuando se utiliza un cartucho con 1 gramo de resina de intercambio iónico, esto resulta engorroso y difícil de manejar a escala analítica. De manera tal, que se determinó una cantidad mínima de muestra para evaluar su uso en crudos extra pesados. Entonces se aplicaron 4 gramos de crudo disueltos en 40 mL de diclorometano y

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

el ensayo se realizó bajo condiciones de repetibilidad y reproducibilidad. Los resultados se muestran en la Tabla 24.

Tabla 24. Precisión del método SPE bajo condiciones de repetibilidad empleando el crudo del campo Carabobo

Días	Medidas	Masa inicial de crudo (g)	Masa recuperada (mg)
Día 1	1	4,0037	6,4
	2	4,0063	5
	3	3,9939	5,9
	4	4,0021	7,1
	5	3,9831	4,9
Media (Dia 1)		3,9978	5,86
S		0,0094	0,9343
S (%)		0,24	15,94
Día 2	1	3,9723	6,1
	2	3,9985	5,3
	3	4,0027	5,4
	4	4,0048	4,9
	5	3,9907	4,8
Media (Dia 2)		3,9938	5,3
S		0,0131	0,5147
S (%)		0,33	9,71
Día 3	1	4,006	6,9
	2	3,9955	6,5
	3	3,9973	6,1
	4	3,9947	6,8
	5	3,9956	7,2
Media (Dia 3)		3,9978	6,7
S		0,0047	0,4183
S (%)		0,12	6,24

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 25. Continuación. Precisión del método bajo condiciones de repetibilidad empleando el crudo del campo Carabobo

Días	Medidas	Masa inicial de crudo (g)	Masa recuperada (mg)
Día 4	1	3,9935	6,4
	2	3,9987	5,9
	3	4,0042	6,7
	4	4,0015	6,9
	5	3,9945	5,9
Media (Dia 4)		3,9984	6,36
S		0,0045	0,4560
S (%)		0,11	7,17
Día 5	1	4,0001	4,9
	2	4,0015	6,3
	3	3,9989	6,1
	4	3,9938	5,9
	5	3,99	6,2
Media (Dia 5)		3,9968	5,88
S		0,0048	0,5674
S (%)		0,12	9,65

www.bdigital.ula.ve

Tabla 26. Precisión del método SPE bajo condiciones de reproducibilidad empleando el crudo del campo Carabobo

Reproducibilidad del método	Masa inicial de crudo (g)	Masa recuperada (mg)
Media (Semana)	3,997	6,02
S	0,0076	0,74
S (%)	0,19	12,26

El método tiene buena reproducibilidad y repetibilidad (Ver Tabla 24, 25 y 26) si se observan los resultados de desviación estándar (S) bajo condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, lo cual nos permite inferir que el método es aplicable para la extracción de ácidos orgánicos, en especial ácidos carboxílicos.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Extracción de ácidos orgánicos en el crudo Carabobo

Los extractos obtenidos por SPE del crudo Carabobo se analizaron con GC-MS bajo las condiciones descritas en la parte experimental sección 4.4.5. La lista de componentes detectados de la fracción extraída del crudo Carabobo mediante SPE se muestra el Tabla 27.

Tabla 27. Lista de componentes ácidos encontrados en la fracción extraída del crudo Carabobo mediante el método SPE desarrollado, empleando GC-MS

Tiempo de retención	Nombre del Compuesto	Coincidencia Espectral (%)	Área (% del total)
0,96	Diclorometano	96	47,581
15,22	2,6-di-ter-butil-p-Cresol	92	0,878
18,80	Adipato de mono-2-etilhexilo	95	1,695
19,59	Ácido n-Hexadecanoico	87	0,852
21,60	Di-oct-4-iléster del - ádico adípico	81	4,066
21,78	Adipato de Diciclohexilo	81	1,393
22,13	Adipato de Di(2-etilhexilo)	88	18,020
22,36	Adipato de Di-isooctilo	86	4,921
22,75	Di-octiléster del Ácido Adípico	95	6,212
23,65	Metil éster del ácido 1-Naftalen-pentanoico	80	1,130
23,75	Ftalato de di-iso-octilo	96	4,782
24,76	Isoftalato de di-iso-octilo	83	3,970
25,38	1,2,3-bis-0-(1-metilentiliden)-D-Xilofuranosa	80	2,651
25,69	Hexil éster del ácido Ciclohexano-carboxilico	80	1,850

Al observar los resultados por GC-MS de la Tabla 27, se encontraron una serie de ácidos carboxílicos de diferente naturaleza, incluyendo un compuesto fenólico (2,6-di-ter-butil-p-Cresol), todos con una coincidencia espectral en un rango de 80% hasta 96%, confirmando que la extracción de especies ácidas fue alcanzada con éxito. No obstante, es probable que a través de un cromatógrafo de gases no se logre observar los ácidos carboxílicos de mayor peso molecular, debido a que estos no son compuestos volátiles. En este sentido, metodologías que emplean HPLC representan una alternativa que permita identificar compuestos de mayor masa molecular.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

El extracto ácido del crudo Carabobo se analizó por espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR), así mismo una muestra de ácido nafténico comercial (marca comercial Fluka) extraída de crudos y sus espectros fueron comparados. Existe similitud entre el resultado del ácido comercial y el del extracto ácido del crudo Carabobo, lo cual sirve para confirmar la composición ácida de dichos extractos ya que, se observan las bandas características (Vibración de alargamiento de los grupos funcionales O-H y C=O) de los grupos funcionales principales de los ácidos. En la Figura 33 y 34 se encuentran los espectros de cada uno de ellos.

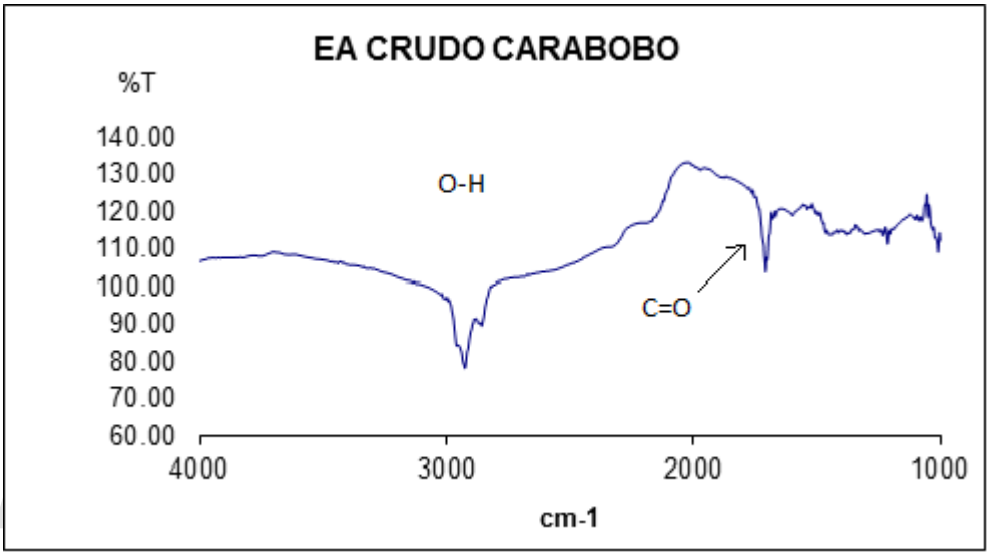


Figura 33. Espectro infrarrojo del extracto ácido del crudo Carabobo.

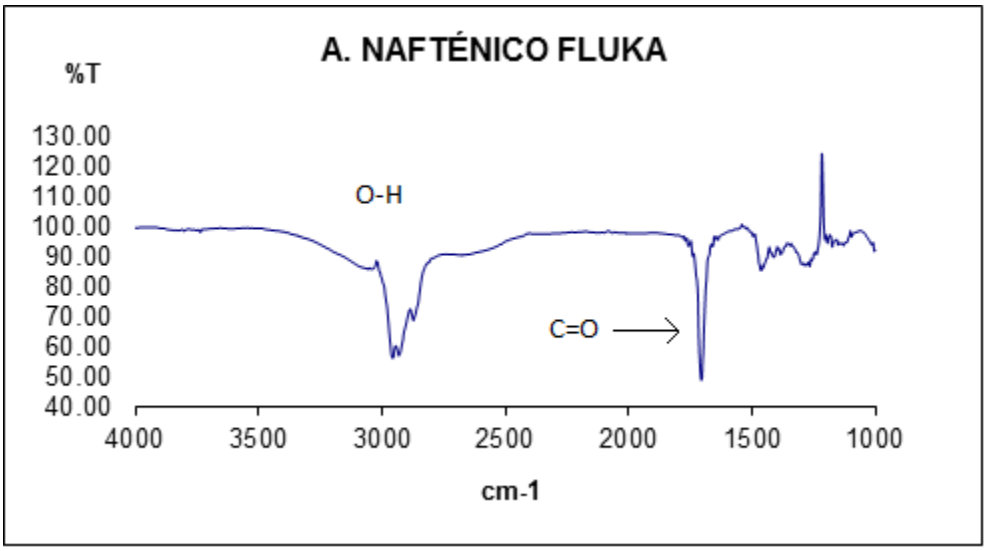


Figura 34. Espectro infrarrojo del ácido nafténico comercial (Fluka).

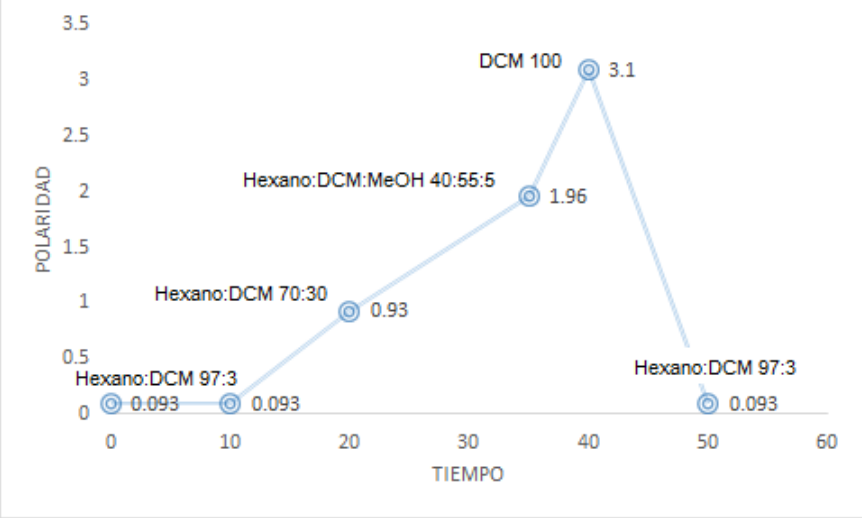
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

6.3.4 Diseño de una metodología HPLC para la separación e identificación de ácidos orgánicos

Se diseñó una metodología cromatográfica empleando HPLC de acuerdo a lo planteado en la sección 5.4.4 con la finalidad de complementar los resultados obtenidos por GC-MS. De igual forma que en las secciones anteriores para el diseño de esta metodología se inyectaron varios patrones de ácidos orgánicos tales como fenol y naftol (compuestos hidroxilos con propiedades acídicas), el ácido naftoico, ácido undecanoico y ácido heptanoico (ácidos carboxílicos lineales y cíclicos) y el ácido benzoico (ácido carboxílico cíclico con dobles enlaces conjugados). Adicionalmente, se incluyeron hidrocarburos de anillos condensado como el naftaleno y antraceno.

Se empezó esta sección, teniendo como referencia el trabajo realizado por A.E Borgund y Colaboradores (2007), los autores desarrollaron un método por HPLC usando cromatografía en fase normal y empleando columnas empacadas con grupos ciano propil (NP-CN), para separar en cuatro fracciones los extractos ácidos orgánicos presentes en crudos Noruegos de la siguiente manera: compuestos no polares, ácidos carboxílicos saturados, fenoles y ácidos polifuncionales. Para esta metodología, se realizó un programa de elución en gradiente para la fase móvil como se observa en este gráfico de polaridad:

www.bdigital.ula.ve



El programa se inicia con Hexano:DCM 97:3 (Polaridad relativa= 0,093) con la finalidad de que los componentes polares se mantengan retenidos a la columna CN, eluyendo en primer lugar los compuestos no polares. Al aumentar progresivamente la polaridad de la fase móvil incrementando la proporción de Diclorometano (Polaridad relativa= 3.1) la elución de los

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

compuestos polares inicia tal y como se observa en la Figura 23. Sin embargo, al simular las condiciones descritas por los autores en la bibliografía, no se obtuvo los resultados esperados.

Partiendo de este hecho, se inició una nueva metodología evaluando diferentes proporciones de mezclas de solventes constituidos por agua (H_2O) y Acetonitrilo (ACN) con la finalidad de incrementar la polaridad de la fase móvil y de esta manera la interacción con la fase estacionaria sea menor. Al emplear una mezcla de fase móvil de H_2O:ACN 60:40 (Condición 1 Tabla 28) cuya polaridad relativa es 7,72, se observó que los ácidos son retenidos en cierto grado en la columna, y se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 28. Condiciones cromatográficas para los patrones por HPLC (condición 1)

Dispositivo	Condiciones de operación
Fase móvil	60% de H20 y 40% de ACN
Columna	Columna Zorbax CN 4,6 x 250 mm, 5µ. Pre-columna (CN)
Temperatura	25 °C
Flujo	1 mL/min
Tiempo de análisis	25 min
Detector de onda variable	280 nm
Detector RID	Temperatura del detector = 25 °C
	Polaridad: Positiva

www.bdigital.ula.ve

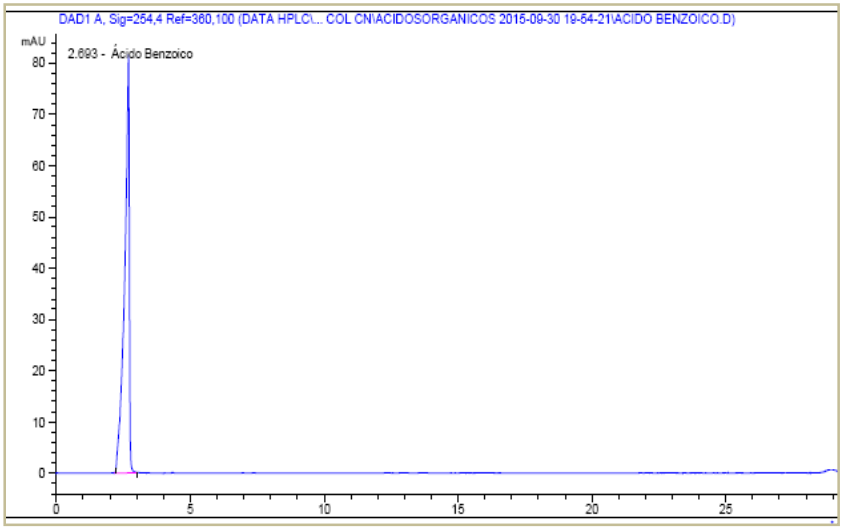


Figura 35. Cromatograma del ácido benzoico por HPLC

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

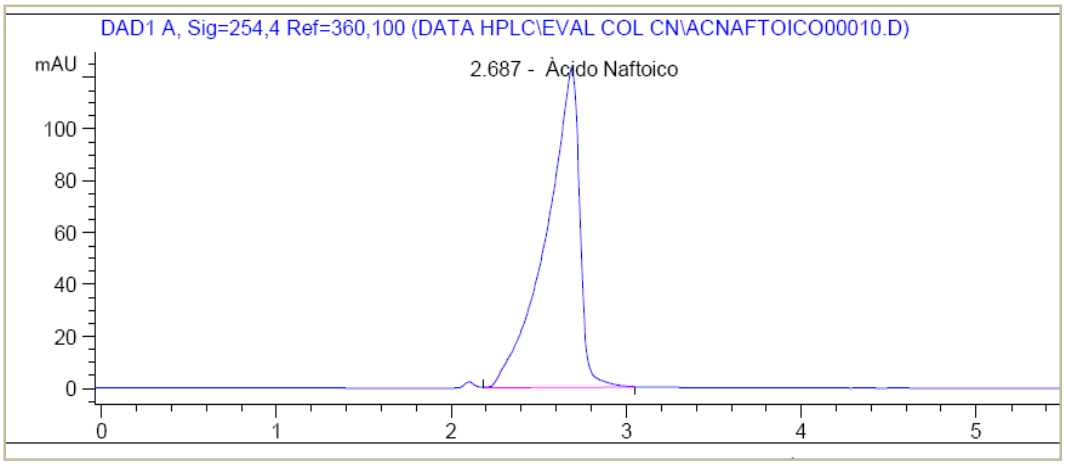


Figura 36. Cromatograma del ácido naftoico por HPLC

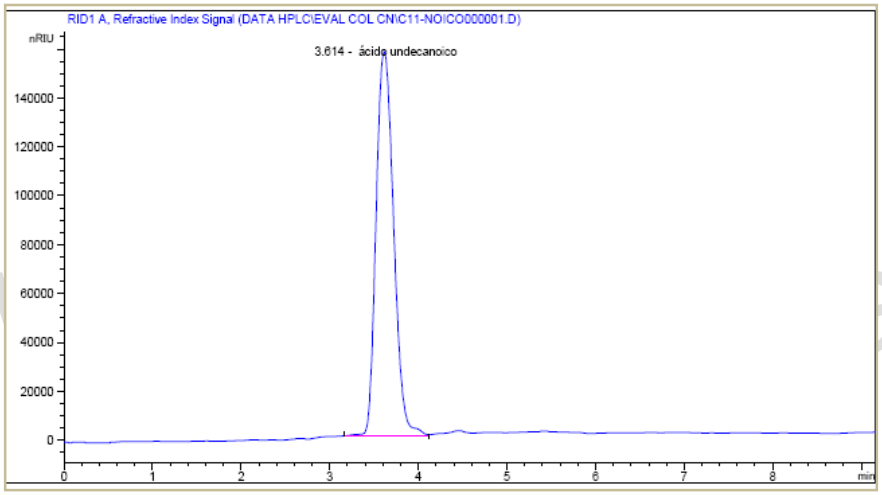


Figura 37. Cromatograma del ácido undecanoico por HPLC

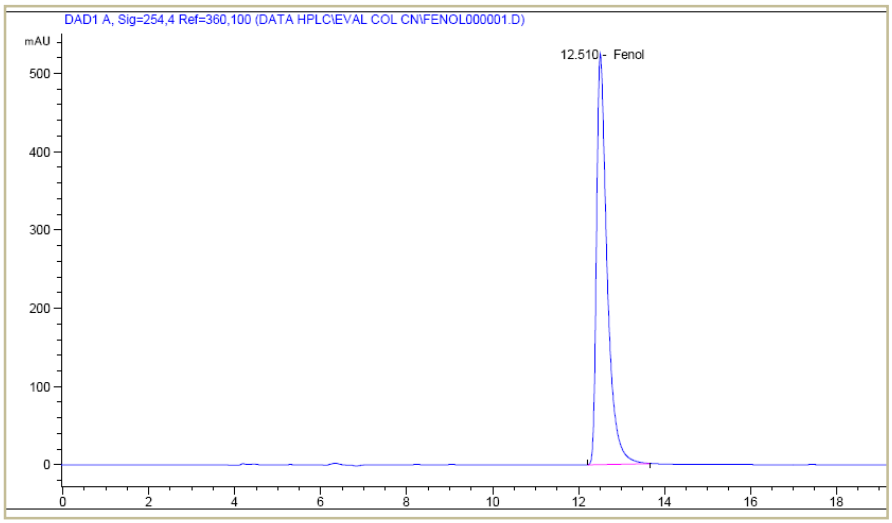


Figura 38. Cromatograma del Fenol por HPLC

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

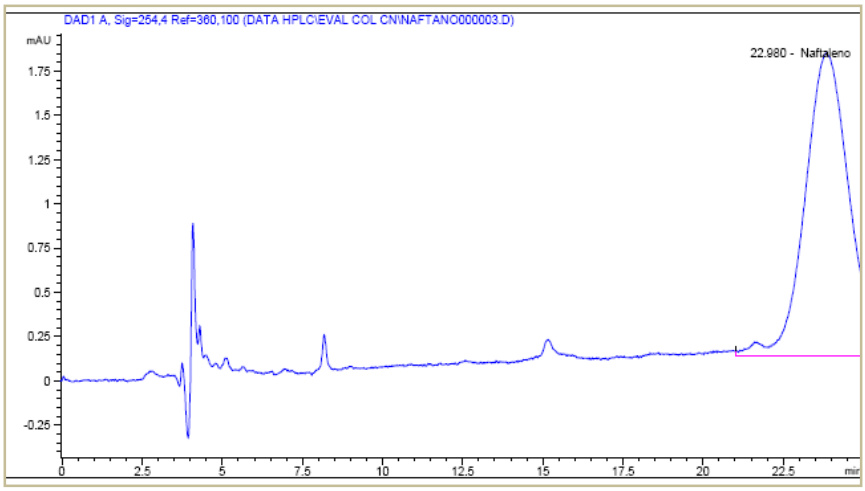


Figura 39. Cromatograma del Naftaleno por HPLC

En los cromatogramas (Figuras 35, 36, 37, 38 y 39) se observan los diferentes picos de cada uno de los patrones de ácidos orgánicos. En este caso, la fase móvil compite con la fase estacionaria, ya que la polaridad de la fase móvil es mayor con respecto a la desarrollada por A.E Borgund y Colaboradores, observándose que los ácidos carboxílicos están saliendo en un tiempo de retención menor a 5 min. El fenol (que representa los compuestos hidroxilos) en un tiempo de 12,510 min y el naftaleno (que representa a los hidrocarburos policondensados) en un tiempo de 22,980 minutos. Ahora bien, bajo las condiciónes que se encuentran Tabla 28 se observa que, debido a la polaridad de la fase móvil, los ácidos carboxílicos están saliendo en el frente del solvente y no están teniendo mayor interacción con la columna ciano. Adicionalmente, debido a la poca solubilidad que tienen los hidrocarburos con la fase móvil (ya que 60% es agua), estos compuestos están teniendo un retraso muy alto, causando mayor tiempo de análisis.

De acuerdo a lo anterior, se ajustaron las proporciones de H_2O y Acetonitrilo, en este caso H2O:ACN 40:60 (condición 2, Tabla 30) cuya polaridad relativa es 7.08, resultando adecuada para fraccionar las mezclas de patrones de ácidos orgánicos en diferentes zonas dependiendo de la polaridad de cada uno de los patrones. En la tabla 29 se indican las condiciones cromatográficas óptimas.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 29. Condiciones cromatográficas para los patrones por HPLC (condición 2).

Dispositivo	Condiciones de operación
Fase móvil	60% de ACN y 40% de H_2O
Columna	Columna Zorbax CN 4,6 x 250 mm, 5µ. Pre-columna (CN)
Temperatura	25 °C
Flujo	1 mL/min
Tiempo de análisis	15 min
Detector de onda variable	280 nm
Detector RID	Temperatura del detector = 25 °C
	Polaridad: Positiva

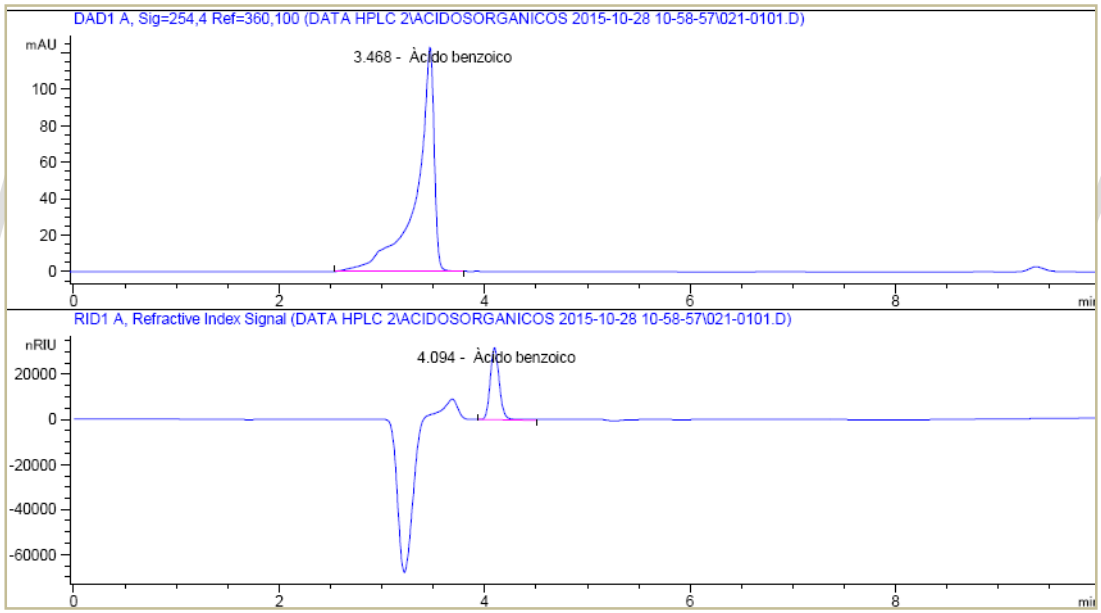


Figura 40. Cromatrograma del Ácido Benzoico

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

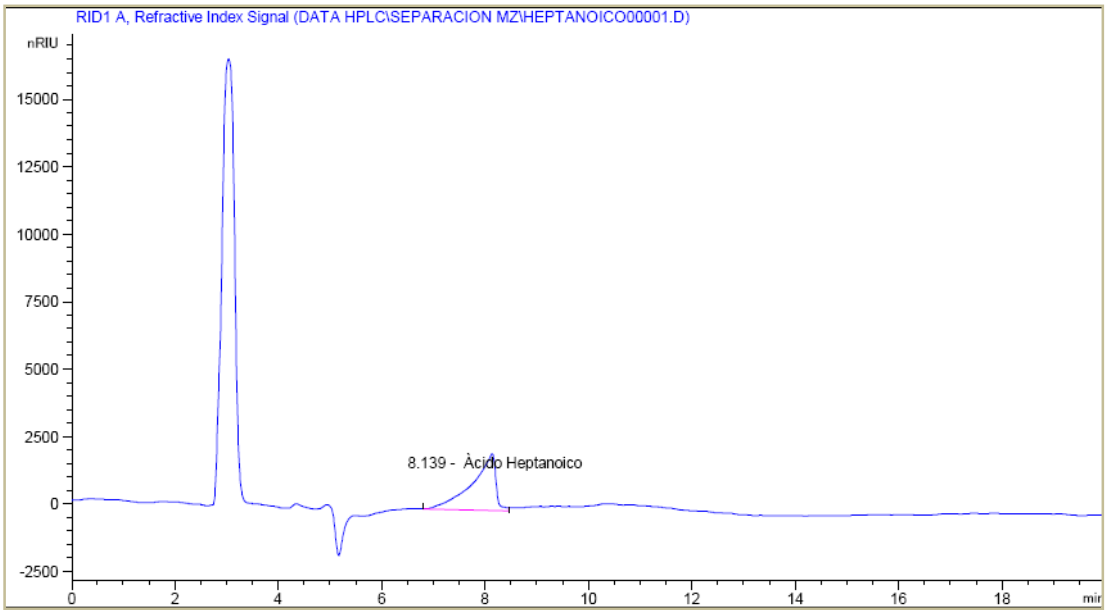


Figura 41. Cromatograma del Ácido Heptanoico

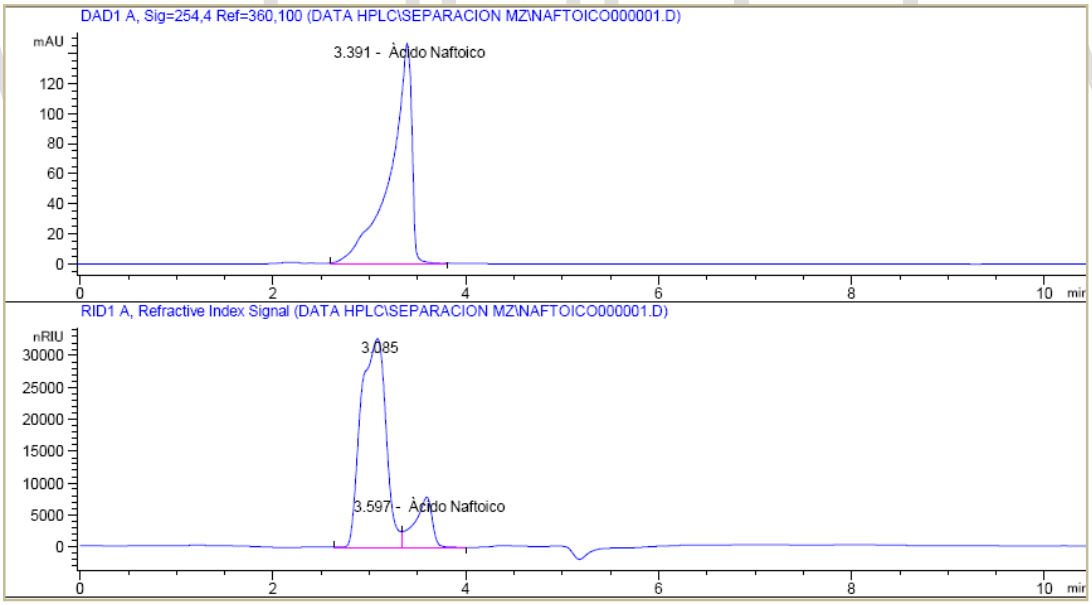


Figura 42. Cromatograma del Ácido Naftoico

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

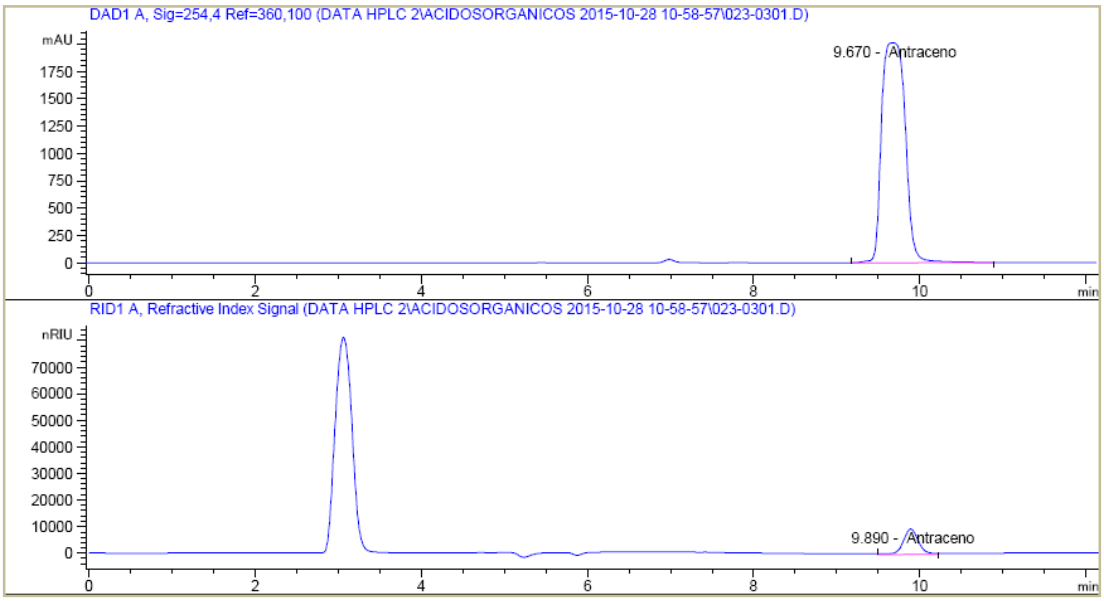


Figura 43. Cromatograma del Antraceno

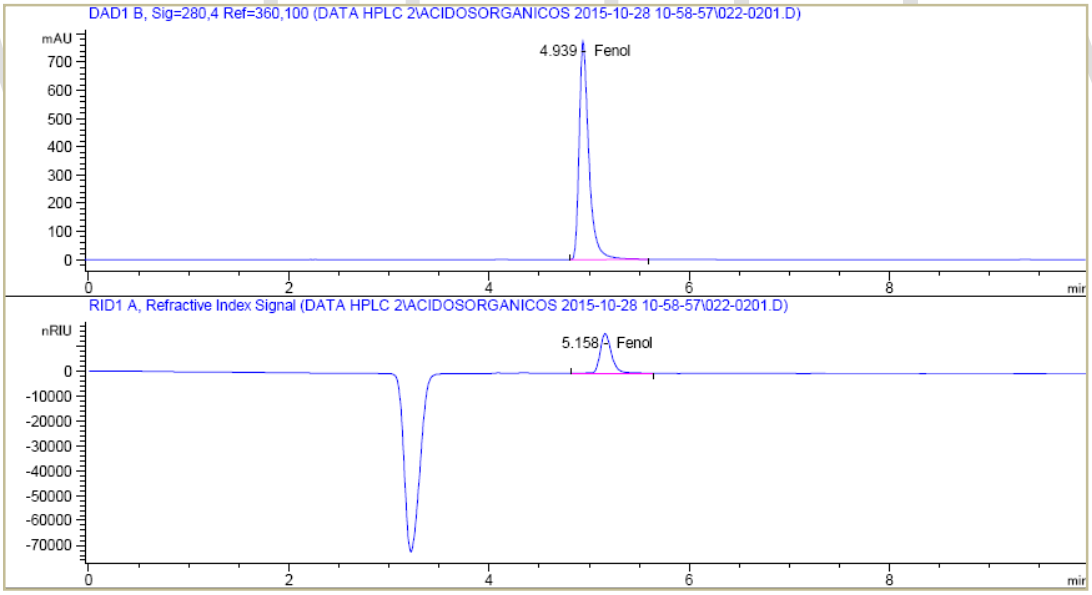


Figura 44. Cromatograma del Fenol

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

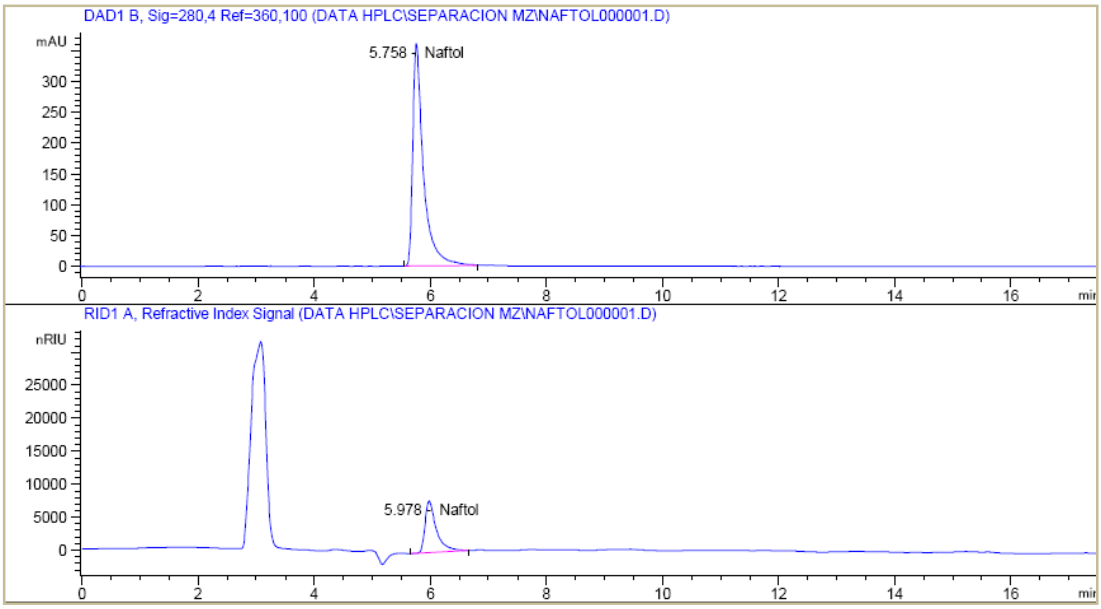


Figura 45. Cromatograma del Naftol

En los cromatogramas (Figuras 40, 41, 42, 43, 44 y 45), se observan que bajo esta nueva condición la polaridad de la fase se ve disminuida, ya que existe mayor cantidad de solvente orgánico en la mezcla de fase móvil (60% de Acetonitrilo) permitiendo que los hidrocarburos policondensados tengan mayor afinidad con la misma y de esta manera los tiempos de retención son mucho menores (9,292 min del Antraceno). Adicionalmente, se observa que los ácidos carboxílicos lineales presentan mayor interacción con la fase estacionaria, esto se evidencia con el ácido heptanoico que tiene ahora un tiempo de retención de 8,753 min.

Seguidamente, se inyectó una mezcla de compuestos patrones bajo las condiciones descritas en la Tabla 29 (Fase móvil ACN:H_2O 60:40). Los resultados se observan en la Figura 46.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

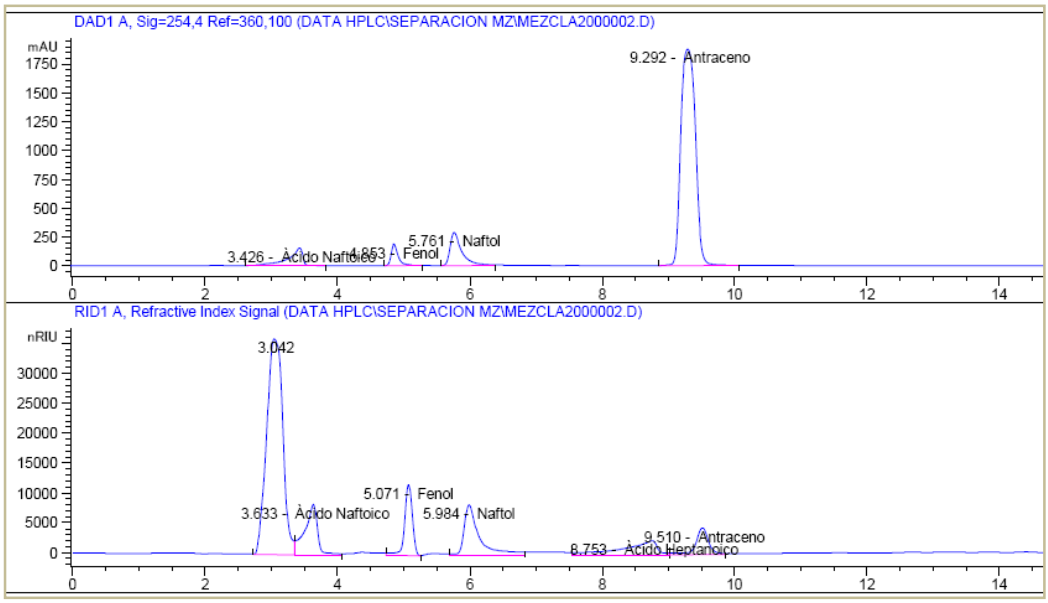


Figura 46. Cromatograma de la mezcla de ácidos orgánicos por HPLC

El rango de tiempo en el que sale determinada especie, se denominara rango de retención o zona de retención. En la primera zona de retención, comprendido desde 0 a 4,5 minutos se encuentran los ácidos carboxílicos monocíclicos (como el ácido naftoico y el ácido benzoico), en la segunda zona de retención están comprendidos los compuestos hidroxilos o ácidos débiles (como el fenol y el naftol) a un tiempo de retención entre 4,5 y 7,3 minutos (Ver cromatograma del detector de arreglo de diodos DAD). La tercera zona de retención se encuentran los acido carboxílicos líneas como el ácido heptanoico comprendido en un tiempo entre 7,3 a 9 min; en este punto es importante resaltar el uso de detector de índice de refracción para compuestos que no poseen cromóforos en su estructura.

Finalmente, en la última zona de retención se encuentran los hidrocarburos como el antraceno en un tiempo de retención comprendido entre 9 y 14 min. Aun y cuando el Antraceno no representa un ácido orgánico, el uso de este se justifica en el que la zona de retención que se encuentra entre 9 y 14 min pudieran eluir ácidos policondensados de gran peso molecular o hidrocarburos pesados que hayan quedado en el proceso de extracción.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

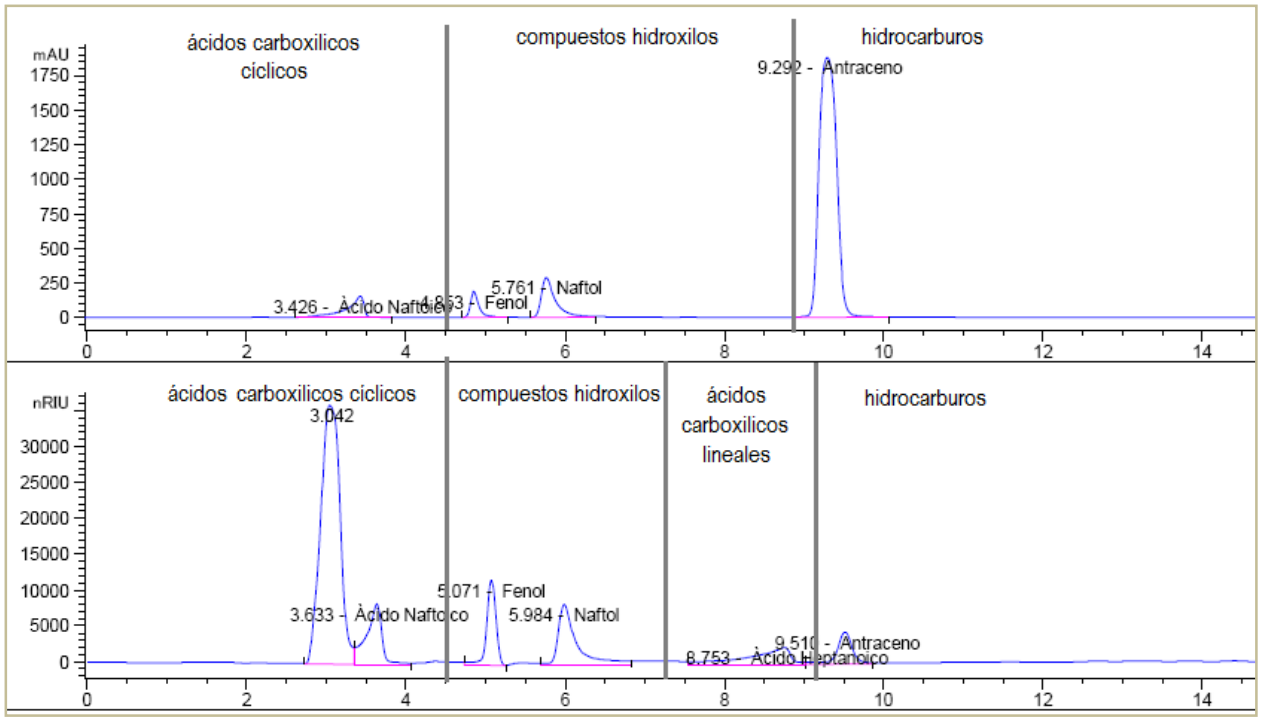


Figura 47. Zonas de separación de ácidos orgánicos por HPLC.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

7. CONCLUSIONES

El desarrollo del método por extracción en fase sólida para la extracción de ácidos del crudo Carabobo resultó eficiente, con buena reproducibilidad y repetibilidad. Es un método rápido, selectivo, de bajo consumo de solventes, muestra y reactivos. El método representa una alternativa para el tratamiento de muestra que puede ser adaptada al análisis por GC-MS y HPLC.

La información obtenida por GC-MS muestra los diferentes ácidos del tipo carboxílico como el ácido n-hexadecanoico, metil éster del ácido 1-Naftalen-pentanoico, hexil éster del ácido Ciclohexano-carboxilico y fenólicos como el 2,6-di-ter-butil-p-Cresol se encuentran en el crudo Carabobo. Especies débilmente ácidas como Tioles, no pueden ser extraídos eficientemente del crudo empleando el método SPE desarrollado. El resultado de ambas metodologías puede ser especialmente útil en estudios de corrosión de crudos por ácidos naftenicos, en el estudio del efecto de los ácidos orgánicos en los fenómenos interfaciales durante el transporte de crudo, entre otros.

www.bdigital.ula.ve

El desarrollo de la metodología HPLC en fase reversa, para separar a los ácidos orgánicos en grupos de especies ácidas en zonas de retención o grupos de especies fue alcanzado con éxito, ya que es un método sencillo que permite separar ácidos de acuerdo a familias y permitirá obtener un perfil de los tipos de ácidos en crudos y que complementara los resultados de SPE-GC-MS. La aplicación de la metodología de los extractos ácidos del crudo Carabobo no fue evaluado.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

8. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda aplicar el método a los demás crudos de la FPO, bajo condiciones de reproducibilidad, repetibilidad y evaluar así las figuras de mérito correspondientes. Así como, a crudos extrapesados ácidos de otras localidades.
2. Se recomienda realizar un estudio al sorbente luego de haberse realizado las extracciones, que permita determina el tipo de especies ácidas que quedan retenidas irreversiblemente en el sorbente.
3. Se recomienda evaluar distintos tipos de resinas aniónicas, para especies ácidas de menor fuerza, con el objetivo de ampliar el rango de especies ácidas que puedan ser analizadas. Especialmente del tipo fenólicos, ya que es una solicitud recurrente en la industria.
4. Se recomienda aumentar la cantidad de muestra de crudo aplicada, con la finalidad de lograr extraer el mayor número de especies ácidas posibles y así realizar un estudio sobre la mayor cantidad de especies ácidas en los crudos de la FPO, así como su caracterización estructural, entre otras cosas.
5. Se recomienda analizar las muestras de extracto acido de crudos a través de HPLC y HPLC-MS, con la finalidad de estudiar otros tipos de ácidos orgánicos de mayor masa molecular y de diferentes características estructurales.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

9. APÉNDICE

6.1 Curvas de calibración por GC-MS

En primer lugar, se realizaron las curvas de calibración correspondientes a los patrones ácidos empleados para el desarrollo de los métodos de extracción soxhlet y extracción en fase sólida; con el fin de estudiar la capacidad de retención del analito en cada uno de los métodos de extracción.

A partir de las condiciones cromatográficas establecidas en la parte experimental, se realizaron las inyecciones de los patrones ácidos para obtener las curvas de calibración respectivas para los ácidos octanoico, fenol, acido benzoico y 2-quinolinethiol. Dicha curva se obtiene al representar gráficamente los datos de las áreas obtenidas y ajustarlos a una ecuación matemática adecuada, y así tener una relación lineal por medio del método de los mínimos cuadrados. La representación gráfica de los datos originó una línea recta y el coeficiente de relación muy cercano a la unidad, lo que las caracteriza como buenas curvas para la cuantificación de las especies en estudio.

www.bdigital.ula.ve

6.1.1 Curva de calibración para el ácido octanoico

Para el ácido octanoico, se realizaron inyecciones de 0, 50, 100, 150, 200 y 250 mg/mL usando como disolvente diclorometano. Estas muestras son llevadas GC-MS en el cual se monitorearon los iones de modo SIM.

Tabla 30. Condiciones del procesamiento en la cuantificación del ácido octanoico

Rango tiempo de retención	11-13 min
Ion primario extraído (m/z)	60
Ion secundario (m/z)	73

Tabla 31. Datos de las áreas obtenidas para la elaboración de la curva de calibración del ácido octanoico

Concentración (mg/mL)	Área
0	0
48,7	2,68E+08
99,4	5,22E+08
150,9	7,92E+08
199,6	1,05E+09
249,3	1,31E+09

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

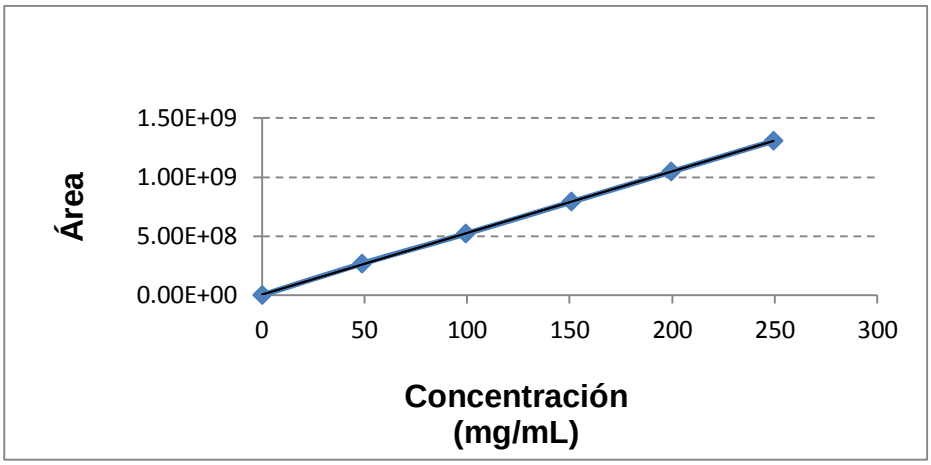


Figura 48. Curva de calibración del ácido octanoico

A partir de los valores experimentales, se diseñó la ecuación de la recta por mínimos cuadrados, el cual dio lo siguiente:

$$Y= 5{,}23E{+}06(X) + 4{,}66E{+}06$$

$$r^2= 0{,}999$$

www.bdigital.ula.ve

Tabla 32. Ajuste de los valores por mínimos cuadrados para el ácido octanoico

Análisis por mínimos cuadrados	Valores obtenidos
Sxx	4,38E+04
Syy	1,20E+18
Sxy	2,29E+11
Pendiente	5,23E+06
Ordenada en el origen	4,66E+06
Desviación estándar de la regresión	5,10E+06
Desviación estándar de la pendiente	2,44E+04
Desviación estándar de la ordenada en el origen	3,68E+06
Regresión lineal (r^2)	0,999

6.1.2 Curva de calibración para el ácido benzoico

De igual manera, para el ácido benzoico se realizaron inyecciones de 0, 25, 50, 75, 100, 125, mg/mL aproximadamente empleando como disolvente diclorometano. Se monitorearon los iones de las muestas en modo SIM a través del GC-MS.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 33. Condiciones del procesamiento en la cuantificación del ácido benzoico

Rango tiempo de retención	11-12 min
Ion primario extraído (m/z)	122
Ion secundario (m/z)	105

Tabla 34. Datos de las áreas obtenidas para la elaboración de la curva de calibración del ácido benzoico

Concentración (mg/mL)	Área (promedio)	Tiempo de retención (min)
0	0	N/A
25,2	153983008	11,429
50,1	347974479	11,635
75,2	477439493.5	11,795
100,6	694406147.5	11,933
124,9	807140173	11,978

www.bdigital.ve

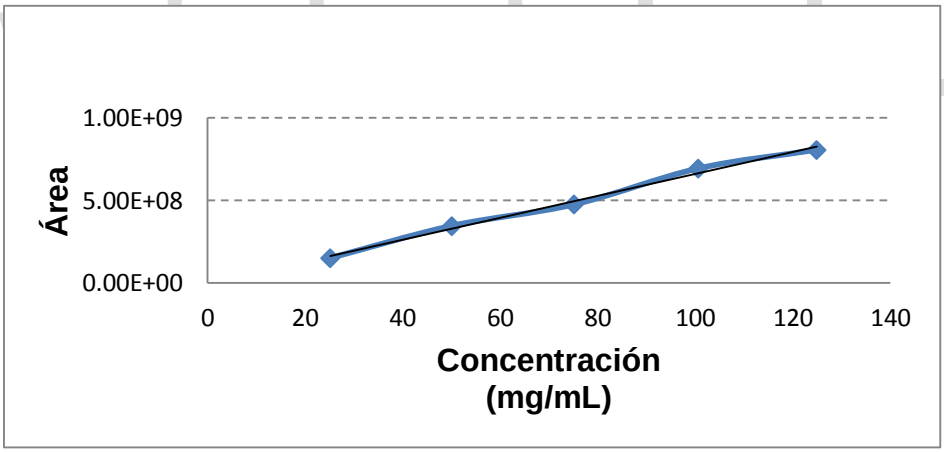


Figura 49. Curva de Calibración del Ácido benzoico

A partir de los valores obtenidos experimentalmente, se diseñó la ecuación de la recta por mínimos cuadrados:

$$Y= 6,61E+06 (X) - 6,39E+05$$

$$r^2= 0,996$$

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 35. Ajuste de los valores por mínimos cuadrados para el ácido benzoico

Análisis por mínimos cuadrados	Valores obtenidos
Sxx	1,10E+04
Syy	4,81E+17
Sxy	7,24E+10
Pendiente	6,61E+06
Ordenada en el origen	-6,39E+05
Desviación estándar de la regresión	2,25E+07
Desviación estándar de la pendiente	2,15E+05
Desviación estándar de la ordenada en el origen	1,63E+07
Regresión lineal (r^2)	0,996

6.1.3 Curva de calibración para el fenol

Para el fenol, se realizaron inyecciones de 0, 25, 50, 75 y 100 mg/mL aproximadamente en diclorometano. Estas muestras son analizadas en el cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas y se monitorearon los iones de modo SIM.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 36. Condiciones del procesamiento en la cuantificación del fenol

Rango tiempo de retención	5.5-6.5 min
Ion primario extraído (m/z)	94
Ion secundario (m/z)	66

Tabla 37. Datos de las áreas obtenidas para la elaboración de la curva de calibración del fenol

Concentración (mg/mL)	Área (promedio)	Tiempo de retención (min)
25	261652301.5	5.952
50.6	678654407.5	6.124
75	1038652217	5.998
100.4	1538594187	6.044

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

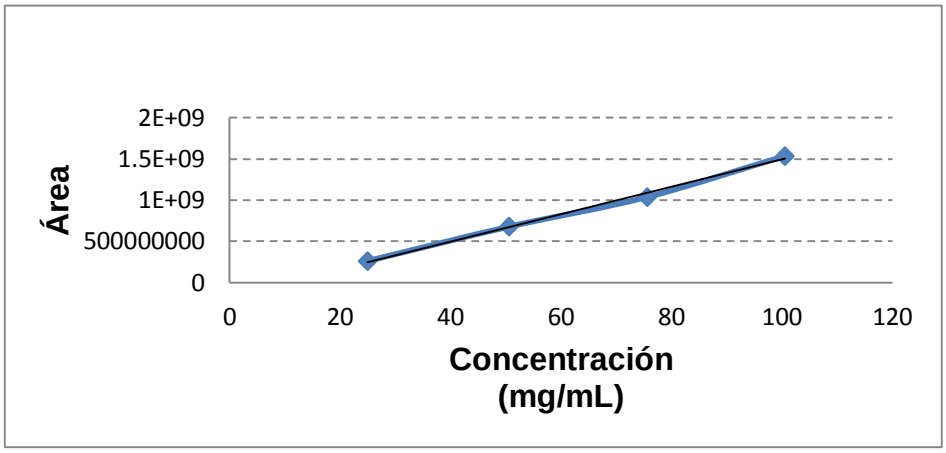


Figura 50. Curva de Calibración del Fenol

De igual manera, se diseñó la ecuación de la recta por mínimos cuadrados:

$$Y = 1{,}53E{+}07\ (X) - 3{,}20E{+}07$$

$$r^2 = 0{,}99474974$$

www.bdigital.ula.ve

Tabla 38. Ajuste de los valores por mínimos cuadrados para el Fenol

Análisis por mínimos cuadrados	Valores obtenidos
Sxx	5,04E+03
Syy	1,19E+18
Sxy	7,72E+10
Pendiente	1,53E+07
Ordenada en el origen	-3,20E+07
Desviación estándar de la regresión	7,90E+07
Desviación estándar de la pendiente	1,11E+06
Desviación estándar de la ordenada en el origen	7,22E+07
Regresión lineal (r^2)	0,99474974

6.1.4 Curva de calibración para el 2-Quinolinethiol

Por último, se realizaron inyecciones de 0, 12.5, 25, 50 y 75 mg/mL aproximadamente de 2-Quinolinethiol en diclorometano. Luego se analizaron en el GC-MS y se monitorearon los iones de modo SIM.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 39. Condiciones del procesamiento en la cuantificación del 2-Quinolinethiol

Rango tiempo de retención	19-20 min
Ion primario extraído (m/z)	161
Ion secundario (m/z)	128

Tabla 40. Datos de las áreas obtenidas para la elaboración de la curva de calibración del 2-Quinolinethiol

Concentración (mg/mL)	Área (promedio)	Tiempo de retención (min)
0	0	0
12,2	45075992	19,082
25	130029283,5	19,105
49,7	381211499,5	19,288
75,4	552729596	19,38

www.bdigital.ula.ve

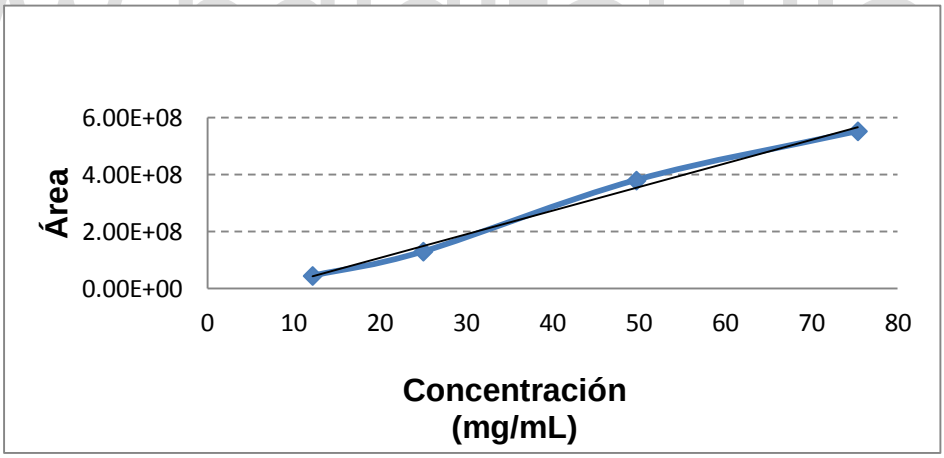


Figura 51. Curva de Calibración del 2-Quinolinethiol

De igual manera, se diseñó la ecuación de la recta por mínimos cuadrados:

$$Y= 7,76E+06 (X) - 3,02E+07$$

$$r^2= 0,986$$

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 41. Ajuste de los valores por mínimos cuadrados para el 2-Quinolinethiol

Análisis por mínimos cuadrados	Valores obtenidos
Sxx	3,66E+03
Syy	2,24E+17
Sxy	2,84E+10
Pendiente	7,76E+06
Ordenada en el origen	-3,02E+07
Desviación estándar de la regresión	3,21E+07
Desviación estándar de la pendiente	5,31E+05
Desviación estándar de la ordenada en el origen	2,24E+07
Regresión lineal (r^2)	0,986

Los respectivos valores de r^2, de cada una de las gráficas de los diferentes ácidos orgánicos muestran que el modelo lineal es suficientemente confiable en el rango de concentración trabajado, ya que estos valores se acercan a la unidad lo cual indica que se estableció una correlación altamente significativa.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

10. BIBLIOGRAFÍA

[1] Organización de Países Exportadores de Petróleo. Página web en línea, dirección: http://www.opec.org/opec_web/en/data_graphs/330.htm Consultada el 03/11/2015.

[2] Teräväinen, M. J., Pakarinen, J. M., Wickström, K., & Vainiotalo, P. (2007). Comparison of the composition of Russian and North Sea crude oils and their eight distillation fractions studied by negative-ion electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: The effect of suppression. *Energy & fuels*, *21*(1), 266-273.

[3] Pabón, C., Peña, D., Mejía, C., & Quiroga, H. (2009). Determinación de la corrosividad por ácido nafténico en un acero ASTM A-106 grado B, bajo condiciones de flujo dinámico. Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 677-681.

[4] Ovalles, C., García, M., Lujano, C., Aular, W., Bermúdez, R., Cotte, Edgar. (1998). Structure/interfacial activity relationships and termal stability studies of Cerro Negro crude oil and its acid, basic and neutral fractions. Fuel 77(3), 121-126.

[5] Nocun, M., & Andersson, J. T. (2012). Argentation chromatography for the separation of polycyclic aromatic compounds according to ring number. *Journal of Chromatography A*, *1219*, 47-53.

[6] Qian, K., Robbins, W. K., Hughey, C. A., Cooper, H. J., Rodgers, R. P., & Marshall, A. G. (2001). Resolution and identification of elemental compositions for more than 3000 crude acids in heavy petroleum by negative-ion microelectrospray high-field Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Energy & Fuels*, *15*(6), 1505-1511.

[7] Carbognani, L., Méndez, A., & Sánchez, V. (1999). Caracterización de crudos venezolanos, orígenes, razones y necesidades. *Acta Científica Venezolana*,*50*(1), 11-17.

[8] Rodgers, R. P., & McKenna, A. M. (2011). Petroleum analysis. *Analytical chemistry*, *83*(12), 4665-4687.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

[9] Barberii, E. El Pozo Ilustrado. (1998) Editorial FONCIED. 4ta Edición; Caracas, Venezuela, 37- 56.

[10] Iglesias, E. Petróleo y Gas Natural: Industria, Mercados y Precios. (2003) Ediciones Akal. Madrid, España.

[11] Speight, J. The chemistry and technology of petroleum. (1999). Tercera edición. Inc.

[12] Ortuño, A. Introducción a la Química Industrial. (1994). Editorial Reverté. Barcelona, España.

[13] Programa Educación y Soberanía Petrolera (PESP) de Petróleos de Venezuela. Página web en linea, dirección: http://www.pdvsa.com/PESP/Pages_pesp/aspectostecnicos/produccion/tipos_crudos.html. Consultada el 03/11/2015.

[14] Marroquin, Gustavo. (2007). Formación de sedimentos durante el hidrotratamiento catalítico de crudos pesados. Tesis Doctoral. México.

[15] Sitio web oficial de Petróleos de Venezuela, S.A. Página web en linea, dirección: http://www.pdvsa.com. Consultada el 09/01/2016.

[16] Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela Nº 39885 Caracas,16 de Marzo de 2012. Página web en linea, dirección: http://www.asambleanacional.gov.ve/ Consultada el 14/06/2012.

[17] Delgado J. Asfáltenos composición, agregación, precipitación. (2006). Cuaderno FIRP S369-A. Universidad de los Andes, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química. 4-10.

[18] Carnahan, N. F., Salager, J. L., Antón, R., & Dávila, A. (1999). Properties of resins extracted from Boscan crude oil and their effect on the stability of asphaltenes in Boscan and Hamaca crude oils. *Energy & Fuels*, *13*(2), 309-314.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

[19] González, M., Colmenares, A. (2004). Estudio del comportamiento de las propiedades fisicoquímicas y reológicas de mezclas de crudos y su relación con la compatibilidad. Universidad Industrial de Santander, Escuela de Ingeniería Química. Bucaramanga.

[20] Aske, N. (2002). Characterisation of crude oil components, asphaltene aggregation and emulsion stability by means of near infrared spectroscopy and multivariate analysis (Doctoral dissertation, Norwegian University of Science and Technology Trondheim).

[21] Oliver, C., Sheu, E. (1993). Asphaltenes: Fundamentals and applications. Based on an International Symposium on the Characterization of Petroleum Colloids Held at the 24th Annual. New York- USA.

[22] Hammami, A., Ferworn, K. A., Nighswander, J. A., Over, S., Stange, E. (1998). Asphaltenic crude oil characterization: An experimental investigation of the effect of resins on the stability of asphaltenes. *Petroleum science and technology*, *16*(3-4), 227-249.

www.bdigital.ula.ve

[23] Frakman, Z., Ignasiak, T. M., Lown, E. M., & Strausz, O. P. (1990). Oxygen compounds in Athabasca asphaltene. *Energy & Fuels*, *4*(3), 263-270.

[24] Ainhoa Caro Pardá. (2006). Biodesulfuración de fracciones petrolífreras: Tratamiento de dibenzotiofeno en distintas condiciones de operación. Universidad de Alcalá. Tesis Doctoral.

[25] Z. Frakman, T. M. Ignasiak, E. M. Lown, 0. P. Strausz. (1990). Oxygen Compounds in Athabasca Asphaltene. Energy & Fuels. Vol 4, p 263-270.

[26] Bonné, R. L. C., Van Steenderen, P., & Moulijn, J. A. (2001). Hydrogenation of nickel and vanadyl tetraphenylporphyrin in absence of a catalyst: a kinetic study. Applied Catalysis A: General, 206(2), 171-181.

[27] Babaian-Kibala, E., Craig Jr, H. L., Rusk, G. L., Blanchard, K. V., Rose, T. J., Uehlein, B. L., & Summers, M. A. (1993). Naphthenic acid corrosion in refinery settings. *Materials Performance;(United States)*, *32*(4).

[28] Hsu, C. S., Dechert, G. J., Robbins, W. K., & Fukuda, E. K. (2000). Naphthenic acids in crude oils characterized by mass spectrometry. Energy & Fuels, 14(1), 217-223.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

[29] Fan, T. P. (1991). Characterization of naphthenic acids in petroleum by fast atom bombardment mass spectrometry. Energy & Fuels, 5(3), 371-375.

[30] Qian, K., Robbins, W. K., Hughey, C. A., Cooper, H. J., Rodgers, R. P., & Marshall, A. G. (2001). Resolution and identification of elemental compositions for more than 3000 crude acids in heavy petroleum by negative-ion microelectrospray high-field Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Energy & Fuels, 15(6), 1505-1511.

[31] Tomczyk, N. A., Winans, R. E., Shinn, J. H., & Robinson, R. C. (2001). On the nature and origin of acidic species in petroleum. 1. Detailed acid type distribution in a California crude oil. Energy & Fuels, 15(6), 1498-1504.

[32] Havre, T. E. (2002). Formation of calcium naphthenate in water/oil systems, naphthenic acid chemistry and emulsion stability. Doctoral thesis. Norwegian.

[33] Brandal, Ø. (2005). Interfacial (o/w) properties of naphthenic acids and metal naphthenates, naphthenic acid characterization and metal naphthenate inhibition. Doctoral Thesis. Norwegian.

[34] Ioppolo, M., Alexander, R., & Kagi, R. I. (1992). Identification and analysis of C 0–C 3 phenols in some Australian crude oils. *Organic Geochemistry*, *18*(5), 603-609.

[35] Brown, J. C., Green, J. B. (1986). Cerro Negro heavy petroleum; separation and analysis of acid, base, saturate and aromatic fractions. NIPER-322.

[36] Shi, L. J., Shen, B. X., & Wang, G. Q. (2008). Removal of naphthenic acids from Beijiang crude oil by forming ionic liquids. Energy & Fuels, 22(6), 4177-4181.

[37] Salager, J. L. (1991). Usos de los surfactantes en la industria Petrolera. Cuaderno FIRP S350-A. Universidad de los Andes, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química.

[38] Vivas, E., Chávez, G., Bravo, B., Ysambertt, F., & Márquez, N. (2002). Estudio de las fracciones ácidas y básicas extraídas de asfaltenos de un crudo pesado. Ciencia, 10(4).

[39] Sitio oficial de NALCO Disponible en http://es-la.nalco.com/la/applications/calcium-naphthenate-inhibitors.htm Página web consultada el 13/01/2015.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

[40] Pabón C., Peña D., Mejía C., Quiroga H. (1993). Determinación de la corrosividad por ácido nafténico en un acero ASTM A-106 grado B, bajo condiciones de flujo dinámico. Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. 677-681.

[41] Hsu, C. S., Dechert, G. J., Robbins, W. K., & Fukuda, E. K. (2000). Naphthenic acids in crude oils characterized by mass spectrometry. Energy & Fuels, 14(1), 217-223.

[42] Standard test method for acid number of petroleum products by potenciometric titration. (1989). Annual book of ASTM Standards, Section 5. American Society for Testing Material, Philadelphia. Designation 664- 89.

[43] Jewell, D. M., Albaugh, E. W., Davis, B. E., & Ruberto, R. G. (1974). Integration of chromatographic and spectroscopic techniques for the characterization of residual oils. Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals, 13(3), 278-282.

www.bdigital.ula.ve

[44] Gaspar, A., Zellermann, E., Lababidi, S., Reece, J., & Schrader, W. (2012). Characterization of saturates, aromatics, resins, and asphaltenes heavy crude oil fractions by atmospheric pressure laser ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Energy & Fuels, 26(6), 3481-3487.

[45] Standard Test Method for Characteristic groups in rubber extender and processing oils and other petroleum- derived oils by the clay-gel absorption chromatographic method. Designation D2007-03.

[46] Sol, B., Romero, E., Carbognani, L., Sánchez, V., & Sucre, L. (1984). Estudio comparativo entre HPLC y TLC-FID para el análisis cuantitativo de fracciones pesadas de petróleo. Revista Técnica de Intevep, 4, 127.

[47] IFP 9305. Petroleum products separation of saturates, aromatics, resins and asphaltenes fractions liquid adsorption chromatography.

[48] De Andrizzi, A., Laba, S. I., Felipe, R., & Quattrocchi, O. A. Introducción a la HPLC: aplicación y práctica.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

[49] Chávez, G., Vivas, E., Bravo, B., Ysambertt, F., & Márquez, N. (2003). Isolation and characterization of neutral, acid and basic fractions from a heavy crude oil and its natural surfactants. Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia, 26(3).

[50] Acevedo, S., Borges, B., Quintero, F., Piscitelly, V., & Gutierrez, L. B. (2005). Asphaltenes and other natural surfactants from Cerro Negro crude oil. Stepwise adsorption at the water/toluene interface: film formation and hydrophobic effects. Energy & fuels, 19(5), 1948-1953.

[51] Zhang, Y., Shi, Q., Li, A., Chung, K. H., Zhao, S., & Xu, C. (2011). Partitioning of crude oil acidic compounds into subfractions by extrography and identification of isoprenoidyl phenols and tocopherols. *Energy & Fuels*, *25*(11), 5083-5089.

[52] Shi, L. J., Shen, B. X., & Wang, G. Q. (2008). Removal of naphthenic acids from Beijiang crude oil by forming ionic liquids. *Energy & Fuels*, *22*(6), 4177-4181.

www.bdigital.ula.ve

[53] MacCrehan, W. A., & Brown-Thomas, J. M. (1987). Determination of phenols in petroleum crude oils using liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytical Chemistry*, *59*(3), 477-479.

[54] Farooq, U., Asif, N., Tweheyo, M. T., Sjöblom, J., & Øye, G. (2011). Effect of low-saline aqueous solutions and pH on the desorption of crude oil fractions from silica surfaces. *Energy & Fuels*, *25*(5), 2058-2064.

[55] Jones, D. M., Watson, J. S., Meredith, W., Chen, M., & Bennett, B. (2001). Determination of naphthenic acids in crude oils using nonaqueous ion exchange solid-phase extraction. *Analytical Chemistry*, *73*(3), 703-707.

[56] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2011). Introduction to modern liquid chromatography. John Wiley & Sons.

[57] Ian A. Fowlis (1995). Gas Chromatography. Segunda Edición. Analytical Chemistry by Open Learning.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

[58] Fundamentals of GC/MS Self-Paced Training Course. AN-CE-GCMS-2-013-B. (2006). Agilent Technologies, Inc.

[59] Zhang, Y., Shi, Q., Li, A., Chung, K. H., Zhao, S., & Xu, C. (2011). Partitioning of crude oil acidic compounds into subfractions by extrography and identification of isoprenoidyl phenols and tocopherols. Energy & Fuels, 25(11), 5083-5089.

[60] Skoog D., Donald W. (2001). Principios de Análisis Instrumental. quinta edición. Editorial Mc. Graw Hill. 435-439

[61] Gil G., Olivo M., Perez A. (2007). Curso Básico Espectrometría Ultravioleta Visible. Gerencia Técnica Laboratorios Generales PDVSA-INTEVEP.

[62] Improving HPLC Performance with Alltech's Evaporative Light Scattering Detector (ELSD). (2000) Alltech Associates, Inc. Bulletin #424A.

www.bdigital.ula.ve

[63] Borgund A., Erstad, K., Barth T. (2007). Normal phase high performance liquid chromatography for fractionation of organic acid mixtures extracted from crude oils. Journal of Chromatography A, 1149, 189–196.

[64] American Society for Testing and Materials. Standard Test Method for Density of Semi-Solid Bituminous Materials (Pycnometer Method). D70-09.

[65] American Society for Testing and Materials. Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration, D 664

[66] Ramljak, Z., Solc, A., Arpino, P., Schmitter, J. M., & Guiochon, G. (1977). Separation of acids from asphalts. Analytical Chemistry, 49(8), 1222-1225.

[67] Borges, B., & Acevedo, S. (2007). Caracterización estructural de distintas fracciones aisladas del crudo extrapesado Carabobo. Revista Latinoamericana de Metalurgia y materiales, 27(2), 83-94.

[68] L.G Wade R. (1993). Química Orgánica (Segunda Edición). Editorial Pearson-Prentice Hall. p 945-986.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

[69] John Mcmurry. (2005). Química Orgánica (Quinta Edición). Editorial Thompson. p 819-825.

[70] Alan S. Wingrove y Robert L. Caret. (1981). Química Orgánica. Oxford University Press Mexico S.A. p 799-1045.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual