



CLÉCIO FERNANDO KLITZKE

**APLICAÇÕES DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE
ALTÍSSIMA RESOLUÇÃO E DA MOBILIDADE IÔNICA
ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM
ESTUDOS DE GEOQUÍMICA ORGÂNICA**

**CAMPINAS
2012**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

CLÉCIO FERNANDO KLITZKE

**APLICAÇÕES DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE
ALTÍSSIMA RESOLUÇÃO E DA MOBILIDADE IÔNICA
ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM
ESTUDOS DE GEOQUÍMICA ORGÂNICA**

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCOS NOGUEIRA EBERLIN

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM CIÊNCIAS.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA POR CLÉCIO
FERNANDO KLITZKE, E ORIENTADA PELO PROF. DR. MARCOS NOGUEIRA EBERLIN.**

Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin

**CAMPINAS
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

K689a Klitzke, Clécio Fernando (1965-).
Aplicações da espectrometria de massas de altíssima resolução e da mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas em estudos de geoquímica orgânica / Clécio Fernando Klitzke. – Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Marcos Nogueira Eberlin.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Petroleômica. 2. Espectrometria de massas de altíssima resolução. 3. Mobilidade iônica. 4. Marcadores polares. I. Eberlin, Marcos Nogueira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês:

Application of ultra high resolution mass spectrometry and ion mobility mass spectrometry in organic geochemistry

Palavras-chave em inglês:

Petroleomics
High resolution mass spectrometry
Ion mobility
Polar markers

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Marcos Nogueira Eberlin [Orientador]
Wagner Leonel Bastos
Luiz Alberto Beraldo de Moraes
Fernando Antonio Santos Coelho
Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

Data de defesa: 23/08/2012

Programa de pós-graduação: Química

Agradecimentos

Agradeço ao Professor Marcos N. Eberlin pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa durante estes três anos e usufruir da excelente infraestrutura deste laboratório. Pela orientação e confiança depositada na minha pessoa para a realização deste e demais trabalhos.

A todos do grupo de pesquisa do Laboratório ThoMson de Espectrometria de Massas, que direta ou indiretamente colaboraram com este trabalho.

Ao Projeto de Pesquisa da Rede Temática de Geoquímica “Petroleômica: Novos Métodos de Caracterização Rápida e Abrangente de Petróleo Bruto e Seus Derivados Via Espectrometria de Massas FT-MS de Altíssima Resolução”. Convênio IQ – UNICAMP/ANP/Petrobras pela bolsa concedida.

Aos docentes e funcionários do Instituto de Química da UNICAMP.

Ao Estado de São Paulo por investir na Universidade Pública com ensino e pesquisa de qualidade.

Curriculum Vitae

1. Área de interesse

Espectrometria de massas, instrumentação e aplicações em química e biologia.

2. Formação acadêmica

1. Doutor na área de Química Orgânica (Espectrometria de Massas) pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP. Projeto: “Aplicações da Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução e da Mobilidade Iônica Acoplada a Espectrometria de Massas em Estudos de Geoquímica Orgânica”. Orientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin. Início agosto de 2009. Defesa da Tese 23 de agosto de 2012. Participante do Projeto de Pesquisa da Rede Temática de Geoquímica “Petroleômica: Novos Métodos de Caracterização Rápida e Abrangente de Petróleo Bruto e Seus Derivados Via Espectrometria de Massas FT-MS de Altíssima Resolução”. Convênio IQ – UNICAMP / ANP / Petrobras. Bolsista FUNCAMP.
2. Doutorado não concluído na área de Química Orgânica (Síntese Orgânica) na Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Foi orientado do Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli no Projeto “Ecologia Química e Síntese de Alcalóides Poli Hidroxilados”. Bolsista CNPq.
3. Mestre em Ciências Biológicas (Ecologia) pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP. Título da Dissertação de Mestrado: Química e coevolução na interface Troidini (Papilionidae) / *Aristolochia* (Aristolochiaceae). Orientador: Prof. Dr. Keith S. Brown Jr. Data de Defesa: 06/02/1992. Bolsista CAPES e FAPESP.
4. Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. Título da Monografia de Bacharelado: Caracterização funcional das hemoglobinas do Miracéu, *Astroscopus sexpinosus* (Uranoscopidae, Osteichthyes). Orientador: Prof. Dr. Danilo Wilhelm Filho. Data da Colação de Grau: 24/07/1988.

3. Experiência profissional

1. **Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas, UNICAMP**, julho de 2009 até o presente. Membro do grupo de pesquisas em petroleômica. Trabalho em colaboração com a Petrobras, utilizando o LTQ Ultra FT-ICR MS (Thermo Scientific), Synapt HDMS (Waters) e MALDI-TOF (Bruker) na análise de misturas complexas como petróleo e derivados.

2. **Pesquisador Associado**, bolsista de treinamento técnico TT-5 FAPESP e posteriormente bolsista do Instituto UNIEMP, março de 2005 a abril de 2009. Centro de Toxinologia Aplicada CAT/CEPID-FAPESP. Instituto Butantan. Atividades: Especialista em Espectrometria de Massas na *Facility* de Espectrometria de Massas - FEM, do Centro de Toxinologia Aplicada CAT/CEPID-FAPESP. Responsável pela operação e análise dos dados obtidos nos espectrômetros de massas MALDI-ToF Ettan (Amersham Biosciences), LC-MS Surveyor MSQ Plus (Thermo Science), nano UPLC - Q-ToF Ultima API (Waters/Micromass) e ion trap linear LTQ XL (Thermo Science). Análise e caracterização de peptídeos e proteínas de toxinas animais e proteômica.
3. **Especialista em Laboratório**, contratado por processo seletivo via PROCONTES, regime CLT, maio de 2000 até fevereiro de 2003. Departamento de Bioquímica. Universidade de São Paulo, USP. Atividades: Especialista em Espectrometria de Massas do Laboratório de Estudo de Lesões em Biomoléculas (coordenador Prof.Dr. Paolo Di Mascio). Responsável pela operação, análise e manutenção do espectrômetro de massas triplo quadrupolo Micromass Quattro II acoplado a HPLC Shimadzu. Caracterização e quantificação de biomoléculas e seus produtos de oxidação.
4. **Professor Substituto**, contratado por processo seletivo, regime CLT, março de 1995 até fevereiro de 1996. Departamento de Biociências. Universidade Federal de Uberlândia, UFU. Atividades: Professor de Ecologia Animal, Tópicos em Ecologia (Introdução à Ecologia Química) e Iniciação à Pesquisa I para o curso de Ciências Biológicas.

4. Artigos publicados

1. Klitzke CF, Corilo YE, Siek K, Binkley J, Patrick J, Eberlin MN. Petroleomic by Ultrahigh-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Energy Fuels*, v.26, p. 5787-5794, 2012.
2. Haddad R, Regiani T, Klitzke CF, Sanvido GB, Corilo YE, Augusti DV, Pasa VMD, Pereira RCC, Romão W, Vaz BG, Augusti R, Eberlin, MN. Gasoline, Kerosene, and Diesel Fingerprint via Polar Markers. *Energy Fuels*, v.26, p. 3542-3547, 2012.
3. Silva, GM, Netto LE, Simões V., Santos LFA, Gozzo FC, Demasi MAA, Oliveira CLP, Bicev RN, Klitzke CF, Sogayar MC, Demasi M. Redox Control of 20S Proteasome Gating. *Antioxidants & Redox Signaling*, v.16, p. 1183-1194, 2012.
4. Santos VG, Regiani, TD, Fernanda FG, Romão W, Jara JL, Klitzke CF, Coelho F, Eberlin MN. Venturi Easy Ambient Sonic-Spray Ionization. *Analytical Chemistry*, v. 83, p. 1375-1380, 2011.

5. Taddei CR, Oliveira FF, Piazza RMF, Leme AFP, Klitzke CF, Serrano SMT, Martinez MB, Elias WP, Sant'Anna OA. A Comparative Study of the Outer Membrane Proteome from an Atypical and a Typical Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Open Microbiology Journal*, v.5, suppl 1-M6, p. 83-90, 2011.
6. Parada, CA, Portaro F, Marengo EB, Klitzke, CF, Vicente EJ, Faria M, Sant'Anna AO, Fernandes BL. Autolytic *Mycobacterium leprae* Hsp65 Fragments May Act as Biological Markers for Autoimmune diseases. *Microbial Pathogenesis*, v. 51, p. 268-276, 2011.
7. Corilo YE, Vaz BG, Simas RC, Lopes HD, Klitzke CF, Pereira RCL, Bastos WL, Rodgers RP, Eberlin MN. Petroleomics by EASI (+/-) FT-ICR MS. *Analytical Chemistry*, v. 82, p. 3990-3996, 2010.
8. Ferreira CR, Turco EGL, Saraiva AS, Bertolla RP, Perecin F, Souza GHMF, Murgu M, Garcia JS, Cortezzi SS, Klitzke CF, Meirelles FV, Cabral EC, Miglino MG, Porciuncula PM, Leal CLV, Borges-Jr E, Martins DS, Ambrosio CE, Dalexandri F, Smith LC, Eberlin MN. Proteomics, Metabolomics and Lipidomics in Reproductive Biotechnologies: The MS Solutions. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 38, p. s277-s289, 2010.
9. Vieira AS, Cunha RLOR, Klitzke CF, Zukerman-Schpector J, Stefani HA. Highly Efficient Palladium-Catalyzed Suzuki–Miyaura Reactions of Potassium Aryltrifluoroborates with 5-Iodo-1,3-Dioxin-4-Ones in Water: An Approach to α -Aryl- β -Ketoesters. *Tetrahedron*, v.66, p.773-779, 2010.
10. Ribeiro-Guimarães ML, Marengo EB, Tempone AJ, Amaral JJ, Klitzke CF, Silveira EK, Portaro FCV, Pessolani MCV. Cloning, Expression and Characterisation of an Htra-Like Serine Protease Produced in Vivo by *Mycobacterium leprae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.104, p.1132-1138, 2009.
11. Conceição K, Santos JM, Bruni FM, Klitzke CF, Marques EE, Borges MH, Melo RL, Fernandez JH, Lopes-Ferreira M. Characterization of a New Bioactive Peptide from *Potamotrygon gr. orbigny* Freshwater Stingray Venom. *Peptides*, v.30, p.2191-2199, 2009.
12. Guerrero JR, Lameu C, Oliveira EF, Klitzke CF, Melo RL, Linares E, Augusto O, Fox JW, Lebrun I, Serrano SMT, Camargo ACM. Argininosuccinate synthetase is a Functional Target for a Snake Venom Anti-Hypertensive Peptide: Role in Arginine and Nitric Oxide Production. *Journal of Biological Chemistry* v.284, p.20022-20033, 2009.
13. Berti DA, Morano C, Russo LC, Castro LM, Cunha FM, Zhang X, Sironi J, Klitzke CF, Ferro ES, Fricker LD. Analysis of Intracellular Substrates and Products of Identification of Thimet Oligopeptidase in Human Embryonic Kidney 293 Cells. *Journal of Biological Chemistry* v.284, p.14105 – 14116, 2009.

14. Cunha F, Berti DA, Klitzke CF, Ferreira ZS, Markus RP, Ferro ES. Intracellular Peptides as Natural Regulators of Cell Signaling. *Journal of Biological Chemistry* v.283, p.24448-24459, 2008.
15. Rioli V, Prezoto BC, Konno K, Melo RL, Klitzke CF, Ferro ES, Lopes-Ferreira M, Camargo ACM, Portaro FC. A Novel Bradykinin Potentiating Peptide Isolated from *Bothrops jararacussu* Venom Using Catalytically Inactive Oligopeptidase EP24.15. *FEBS Journal* v.275, p.2442-2454, 2008.
16. Paes-Leme AF, Prezoto BC, Yamashiro ET, Bertholim L, Tashima AK, Klitzke CF, Camargo ACM, Serrano SM. *Bothrops* Protease A, a Unique Highly Glycosylated Serine Proteinase, is a Potent, Specific Fibrinogenolytic Agent. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* v.6, p.1363-1372, 2008.
17. Cella R, Cunha RLOR, Reis AES, Pimenta DC, Klitzke CF, Stefani, HA. Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reactions of Aryl Tellurides With Potassium Aryltrifluoroborate Salts. *Journal of Organic Chemistry*, v. 71, p. 244-250, 2006.
18. Machado MF, Cunha F, Berti DA, Heimann A, Klitzke CF, Rioli V, Oliveira V, Ferro ES. Substrate Phosphorylation Affects Degradation and Interaction to Endopeptidase 24.15, Neurolysin, and Angiotensin-Converting Enzyme. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 339, n. 2, p. 520-525, 2006.
19. Martinez GR, Almeida EA, Klitzke CF, Onuki J, Prado FM, Medeiros MHG, Di Mascio P. Measurement of Melatonin and its Metabolites. Importance for the Evaluation of Their Biological Roles. *Endocrine*, v. 27, p. 111-118, 2005.
20. Almeida EA, Klitzke CF, Martinez GR, Medeiros MHG, Di Mascio P. Synthesis of Internal Labeled Standards of Melatonin and its Metabolite N₁-Acetyl-N₂-Formyl-5-Methoxykynuramine for their Quantification Using an On-Line Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry System. *Journal of Pineal Research*, v. 36, p. 64-71, 2004.
21. Almeida EA, Marques SA, Klitzke CF, Bainy ACD, Medeiros MHG, Di Mascio P, Loureiro APM. DNA Damage Levels in the Digestive Gland and Mantle Tissue of the Mussel *Perna perna*. *Comparative Biochemistry and Physiology. C, Comparative Pharmacology and Toxicology*, v. 135, p. 295-303, 2003.
22. Almeida EA, Martinez GR, Klitzke CF, Medeiros MHG, Di Mascio P. Oxidation of Melatonin by Singlet Molecular Oxygen Produces N₁-Acetyl-N₂-Formyl-5-Methoxykynurenine. *Journal of Pineal Research*, v. 35, p. 131-137, 2003.

23. Klitzke CF, Pilli RA. Enhanced *Trans* Diastereoselection in the Allylation of Cyclic Chiral *N*-Acyliminium Ions. Synthesis of Hydroxylated Indolizidines. *Tetrahedron Letters*, v. 42, p. 5605-5608, 2001.
24. Klitzke CF, Trigo JR. New Records of Pyrrolizidine Alkaloid - Feeding Insects. Hemiptera and Coleoptera on *Senecio brasiliensis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 28, p. 313-318, 2000.
25. Klitzke CF, Brown-Jr KS. The Occurrence of Aristolochic Acids in Neotropical Troidine Swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae). *Chemoecology*, v. 10, p. 99-102, 2000.
26. Oliveira PS, Klitzke CF, Vieira E. The Ant Fauna Associated with the Extrafloral Nectaries of *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae) in an Area of Cerrado Vegetation in Central Brazil. *Entomologist's Monthly Magazine*, v. 131, p. 77-82, 1995.

5. Capítulo de Livro

1. Brown-Jr KS, Klitzke CF, Berlingeri C, Santos, PER. Neotropical Swallowtails: Chemistry of Food Plant Relationships, Population Ecology, and Biosystematics. *In*: Scriber JM, Tsubaki Y, Lederhouse RC. Swallowtails butterflies: their ecology and evolution. Scientific Publishers Inc, pp. 405-445, 1995.

6. Cursos Extra-Curriculares

1. “*Fundamentos em ICP-MS e sua Aplicação em Metalômica*”. Carga horária: 8h. Responsáveis: Prof.Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda e Prof.Dr. Amauri A. Menegario. 4^o Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas. Campinas 10 a 13 de dezembro de 2011.
2. “*Petroleomics by Mass Spectrometry: MS Returns to its Roots*”. Carga horária: 8 h. Responsável: Dr. Ryan Rodgers. 3^o Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas. Campinas 12 a 15 de dezembro de 2009.
3. The First Workshop “*Proteomics of the New World*”. Carga horária: 33h 15min. Responsável: Prof.Dra. Ana Tereza Vasconcelos. Período: 12 a 16 de maio de 2008. Local: Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC/MCT), Petrópolis, RJ, Brasil.
4. Curso “*Mapeamento, identificação e estudo funcional de genes associados a doenças mendelianas e complexas na era pós-genômica*”. Carga horária: 40h. Responsável: Prof.Dra. Eloisa Sá Moreira. Período: 19 a 23 de agosto de 2002. Local: Centro de Estudos do Genoma Humano, USP, São Paulo, SP, Brasil.

5. Mini-Curso “*Biologia Molecular Estrutural*”. Carga horária: 40h. Responsável: Prof.Dr. Igor Polikarpov. Período: 13 a 17 de julho de 1998. Local: Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS, Campinas, SP, Brasil.

APLICAÇÕES DA ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTÍSSIMA RESOLUÇÃO E DA MOBILIDADE IÔNICA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM ESTUDOS DE GEOQUÍMICA ORGÂNICA

RESUMO

O petróleo é uma mistura complexa, constituída de milhares de compostos e sua caracterização é fundamental em diversos processos da indústria petrolífera. A abordagem moderna para a caracterização total dos compostos polares (N, O, S) do petróleo é através da petroleômica, utilizando a espectrometria de massas de altíssima resolução e exatidão obtida em espectrômetros de ressonância ciclotrônica de íons com análise por transformada de Fourier (FT-ICR MS). FT-ICR MS é o equipamento ideal para estas análises, no entanto a literatura carece de informações quanto a otimização do número de *scans* e do efeito da resolução na análise petroleômica. Determinamos como condições ideais para a análise destas amostras de altíssima complexidade a obtenção de espectros de MS com poder de resolução de 400.000 em m/z 400 e acúmulo de 100 μ scans. Foram analisados também os compostos polares presentes em outras fontes de combustíveis fósseis, como carvão mineral e folhelho. Os resultados mostraram padrões distintos em relação à origem do material e possivelmente ao grau de evolução térmica. Comparamos a análise por FT-ICR MS dos ácidos carboxílicos de amostras de petróleo com os resultados das análises de frações ácidas por FAB MS obtidas no CENPES – PETROBRAS, mostrando que as análises por FT-ICR MS apresentam resultados superiores na identificação da distribuição de DBE sendo que por FAB MS não temos informações relativas a DBE superior a 7. A análise abrangente da composição de ácidos do petróleo é de extrema importância com conta da corrosão e formação de depósitos e emulsões, dependentes da composição destes ácidos. Comparamos alguns resultados da análise por FT-ICR MS com TOF MS (UHRT) de altíssima resolução, 100.000. Os resultados obtidos com UHRT MS estão próximos as análises por FT-ICR MS com 200.000 de resolução em m/z 400. Obtivemos a identificação de boa parte das classes de heteroátomos úteis nas análises petroleômicas. Analisamos por *Travelling Wave Ion Mobility Mass Spectrometry* (TWIM MS) padrões de ácidos, destilados e amostras de petróleo. Os resultados obtidos mostraram uma tendência da redução do *drift time* com o aumento da DBE dos analitos. As amostras de petróleo também revelaram perfis distintos para diferentes faixas de *drift time*, sendo possível diferenciar classes de compostos polares (O₂, N e NO). Os resultados obtidos mostraram o grande potencial da análise por FT-ICR MS e UHRT MS, complementados pela análise estrutural fornecida pela mobilidade iônica com o uso da TWIM MS.

APPLICATION OF ULTRA HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY AND ION MOBILITY MASS SPECTROMETRY IN ORGANIC GEOCHEMISTRY

ABSTRACT

Crude oil is a complex mixture consisting of thousands of compounds and their characterization is essential in various processes of the petroleum industry. The modern approach to the characterization of total polar compounds (N, O, S) of oil is through petroleomics MS, using the ultra-high resolution mass spectrometry and accuracy obtained in ion cyclotron resonance spectrometers with analysis by Fourier transform (FT-ICR MS). FT-ICR MS is the ideal equipment for these analyses, however the literature lacks information about the optimization of scan number and the effect of resolving power in the petroleomic analysis. We determine the ideal conditions for the analysis of these samples of high complexity getting MS spectra with resolving power of 400,000 in m/z 400 and accumulation of 100 μ scans. Polar compounds in crude oil, and other sources of fossil fuels such coal and shale were analyzed. The results showed distinct patterns in relation to the origin of the material and possibly the degree of thermal evolution. We compare the performance of FT-ICR MS with FAB MS in the analysis of carboxylic acids composition of crude oil samples. Analyses by FT-ICR MS feature superior results in identifying the distribution of DBE. FAB MS does not have information on DBE exceeding 7. Comprehensive analysis of the composition of crude oil acids is of extreme importance with account of corrosion and formation of deposits and emulsions, dependent on the composition of these acids. We compare some results of the analysis by FT-ICR MS with ultra-high resolution TOF MS (UHRT) with 100,000 of resolving power. The results obtained with UHRT MS are equivalent to the FT-ICR MS with 200,000 resolving power at m/z 400. We obtained the identification of most of the classes of heteroatoms useful in petroleomic analysis and the results show that UHRT performance is near to FT-ICR. Traveling Wave Ion Mobility Mass Spectrometry (TWIM MS) show good results to study the patterns of ion mobility of acid samples, distillates cuts and crude oil samples. The results showed a trend of reducing the drift time with increasing DBE of the analytes. The crude oil samples also revealed different drift time profiles for different classes of polar compounds (O_2 , N, and NO). The results obtained show the great potential of FT-ICR MS and UHRT MS analysis, complemented by structural analysis provided by ion mobility with the use of TWIM MS, of distillate cuts and crude oil samples.

ÍNDICE

Lista de Abreviaturas.....xxiv

Lista de Tabelas.....xxv

Lista de Figuras.....xxv

Capítulo 1

Aplicações da Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução e da Mobilidade Iônica Acoplada a Espectrometria de Massas em Estudos de Geoquímica Orgânica

1.1. Introdução Geral.....1

1.1.1. Petróleo: Formação, Composição e Propriedades.....1

1.1.2. Principais Técnicas Analíticas Empregadas na Análise Orgânica do Petróleo.....13

Fluorescência e Fosforescência.....13

Infravermelho.....14

Raman.....15

UV/Visível.....15

Ressonância Magnética Nuclear (^1H , ^{13}C).....16

Cromatografia a Gás (GC, GC x GC).....17

Cromatografia Líquida (HPLC).....18

1.1.3. Petroleômica.....19

1.1.4. ESI-FT-ICR MS.....20

1.1.5. ESI-IM-MS.....	24
1.2. Objetivos Gerais.....	28
1.3. Referências Bibliográficas.....	29

Capítulo 2

Avaliação das Condições Ideais de Análise de Amostras de Petróleo por Espectrometria de Massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons com Transformada de Fourier e Comparação dos Perfís de Compostos Polares Presentes em Amostras de Petróleo, Folhelho e Carvão Mineral

2.1. Introdução.....	33
2.2. Objetivos.....	39
2.3. Parte Experimental.....	39
Preparo de Amostras.....	39
Análise por FT-ICR MS.....	40
Processamento dos Dados.....	41
2.4. Resultados e Discussão.....	41
Influência do Poder de Resolução e do Número de <i>Scans</i> na Análise Petroleômica por ESI-FT-ICR MS.....	41
Comparação do Perfil de Compositos Polares em Amostras de Petróleo, Folhelho e Carvão Mineral.....	56
2.5. Conclusões.....	68
2.6. Referências Bibliográficas.....	69

Capítulo 3

Petroleômica via ESI FT-ICR MS Versus FAB MS: Caracterização de Ácidos Naftênicos em Amostras de Petróleos Brasileiros

3.1.	Introdução.....	71
3.2.	Objetivos.....	72
3.3.	Parte Experimental.....	72
	Amostras de Petróleo.....	72
	Análise por ESI (-) FT-ICR MS.....	73
	Processamento dos Dados.....	73
3.4.	Resultados e Discussão.....	73
3.5.	Conclusões.....	80
3.6.	Referências Bibliográficas.....	81

Capítulo 4

Caracterização de compostos polares em petróleo e cortes de destilação utilizando espectrometria de massas por tempo de voo de altíssima resolução

4.1.	Introdução.....	83
4.2.	Objetivos.....	86
4.3.	Parte Experimental.....	86
	Amostras de Petróleo.....	86
	Análise por UHRT MS.....	86

Análise por FT-ICR MS.....	89
Processamento de Dados.....	89
4.4. Resultados e Discussão.....	89
4.5. Conclusões.....	110
4.6. Referências Bibliográficas.....	110

Capítulo 5

Caracterização de ácidos carboxílicos lineares e cíclicos por mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas e sua aplicação na análise de petróleo e cortes de destilação

5.1. Introdução.....	113
5.2. Objetivos.....	115
5.3. Parte Experimental.....	115
Reagentes Químicos e Amostras de Petróleo.....	115
Análise por IM-MS.....	115
5.4. Resultados e Discussão.....	118
Mobilidade iônica dos Ácidos Carboxílicos Lineares.....	118
Efeito da Insaturação na Mobilidade Iônica de Ácidos Carboxílicos Lineares.....	119
Mobilidade Iônica dos Ácidos Carboxílicos Cíclicos.....	121
Mobilidade Iônica de Ácido Carboxílico Cíclico Versus Ácido Carboxílico Linear.....	125

Mobilidade Iônica de Isômeros de Ácidos Carboxílicos Cíclicos.....	127
Mobilidade Iônica dos Biomarcadores Ácidos Ergostanóicos.....	128
Mobilidade Iônica de Cortes de Destilação e Amostras de Petróleo.....	130
5.5. Conclusões.....	136
5.6. Referências Bibliográficas.....	136

Capítulo 6

Aplicações da Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução e da Mobilidade Iônica Acoplada a Espectrometria de Massas em Estudos de Geoquímica Orgânica

6.1. Conclusões Gerais.....	139
-----------------------------	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

APCI - ionização química a pressão atmosférica
API - ionização a pressão atmosférica
° API - medida de densidade por grau API
APPI - fotoionização a pressão atmosférica
CE - eletroforese capilar
CN - número de carbonos
DB - número de duplas ligações
DBE - equivalente de duplas ligações
ESI - ionização por *electrospray*
FAB MS - espectrometria de massas por ionização por bombardeamento de átomos rápidos
FFP - *folded flight path*
FT - transformada de Fourier
FT-ICR MS – espectrometria de massas por ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier
FT-IR - espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
GC - cromatografia a gás
GC x GC - cromatografia a gás bidimensional
GC-FID - cromatografia a gás acoplada a detecção por ionização por chama
GC-MS - cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas
HPLC - cromatografia líquida de alto desempenho
HPLC-MS - cromatografia líquida de alto desempenho acoplada a espectrometria de massas
HRT - tempo de voo de alta resolução
ICR - ressonância ciclôtrica de íons
IM-MS - espectrometria de mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas
IMS - espectrometria de mobilidade iônica
IR - espectroscopia de infravermelho
LTQ - *trap* linear quadropolo
m/z - razão massa sobre carga
MS - espectrometria de massas
NMR - ressonância magnética nuclear
PHA - hidrocarboneto poliaromático
RF - radiofrequência
SARA - saturados, aromáticos, resinas, asfaltenos
TOF - tempo de voo
TWIM-MS - mobilidade iônica por *travelling wave* acoplada a espectrometria de massas
UHRT - tempo de voo de altíssima resolução
UHRT MS - espectrometria de massas por tempo de voo de altíssima resolução
UV/Vis - espectroscopia de ultravioleta/visível

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Componentes do petróleo (SARA) baseados na solubilidade / insolubilidade	10
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Formação do petróleo. (Adaptado de Restlé, 1984).....	2
Figura 1.2. Compostos orgânicos do petróleo.....	3
Figura 1.3. Exemplos de compostos polares contendo N, S, O, encontrados no petróleo.....	4
Figura 1.4. Complexos porfirínicos e não porfirínicos de vanádio encontrados no petróleo (Segundo Amorin <i>et al.</i> 2007).....	5
Figura 1.5. Evolução da massa molar e da composição química em função do ponto de ebulição (Altgelt e Boduszynski, 1994).....	6
Figura 1.6. Modelo de molécula de asfalteno.....	7
Figura 1.7. Distribuição dos compostos presentes no petróleo relacionados com o ponto de ebulição.....	8
Figura 1.8. Cella de ICR (<i>trap</i> de Penning) contendo as placas de trapeamento, excitação e detecção.....	22
Figura 1.9. Etapas de excitação e detecção das frequências ciclotrônicas dos íons armazenados no <i>trap</i> de Penning.....	23
Figura 1.10. Transiente (decaimento da amplitude das frequências no domínio de tempo) obtido após a detecção das frequências ciclotrônicas dos íons armazenados na cela de ICR.....	23
Figura 1.11. Sequência de eletrodos como guias de íons (Segundo Pringle <i>et al.</i> 2007).....	26
Figura 1.12. Operação da cela de mobilidade com a aplicação de um pulso DC (Segundo Pringle <i>et al.</i> 2007).....	27

Figura 1.13.	Diagrama esquemático da cela de mobilidade do Synapt HDMS, compreendendo um trap para acumular íons, a cela de mobilidade (IMS) e o transfer (Segundo Pringle <i>et al.</i> 2007).....	27
Figura 2.1.	Exemplos das principais classes de heteroátomos identificadas em petróleo por ESI.....	34
Figura 2.2.	Reservas de combustíveis fósseis no Brasil (%) (DNPM, 2000).....	36
Figura 2.3.	Detalhe estratigráfico do Grupo Passa Dois em São Mateus do Sul, PR. Destaque para as camadas de folhelho da Formação Irati, segundo (Milani e Araújo, 2003).....	37
Figura 2.4.	Localização das principais jazidas de carvão mineral da Bacia do Paraná (segundo Gomes <i>et al.</i> 2003).....	38
Figura 2.5.	Diagrama esquemático do FT-ICR MS Thermo Scientific LTQ FT Ultra 7 T.....	41
Figura 2.6.	Relação entre Δm , faixa de m/z e exatidão de massa (ppm).....	42
Figura 2.7.	Efeito da exatidão de massa no número de fórmulas elementares prováveis (para C, H, N, O) em relação à massa molecular do analito. Segundo Quenzer <i>et al.</i> (2002).....	43
Figura 2.8.	a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 1 analisado por ESI (+) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.....	45
Figura 2.9.	a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 2 analisado por ESI (+) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.....	46
Figura 2.10.	a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 1 analisado por ESI (-) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.....	47
Figura 2.11.	a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 2 analisado	

por ESI (-) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.....	48
Figura 2.12. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 1 por ESI (+) FT-ICR MS em 400.000@400 variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 μ scans.....	49
Figura 2.13. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 2 por ESI (+) FT-ICR MS em 400.000@400 variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 μ scans.....	50
Figura 2.14. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 1 por ESI (-) FT-ICR MS em 400.000@400 variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 μ scans.....	51
Figura 2.15. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 2 por ESI (-) FT-ICR MS em 400.000@400 variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 μ scans.....	52
Figura 2.16. Resolução mínima para separar alguns isóbaros por FT-ICR MS e sua relação com o poder de resolução ao longo da faixa de m/z	53
Figura 2.17. "Espectro" hipotético mostrando a distribuição relativa de algumas classes de heteroátomos ao longo da faixa de m/z	53
Figura 2.18. ESI(-)FT-ICR MS amostra P1 adquirida com poder de resolução 400.000@400 e acúmulo de 100 μ scans.....	54
Figura 2.19. Ampliação do espectro de ESI(-)FT-ICR MS da amostra P1. O incremento de 14.0157 equivale a adição de unidades CH_2 , indicativo de uma série homóloga para mesmo DBE (equivalente de dupla ligação).....	55
Figura 2.20. Ampliação do espectro de ESI(-)FT-ICR MS da amostra P1. A variação de 2.0157 (H_2) indica mudança de DBE (equivalente de duplas ligações).....	55

Figura 2.21. Distribuição relativa de classes de heteroátomos em amostras de petróleo (P1, P2, P3), folhelho (F) e carvão mineral (C), analisadas por ESI (+) FT-ICR MS.....	56
Figura 2.22. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N nas amostras de petróleo P1, P2 e P3 analisadas por ESI (+) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	57
Figura 2.23. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N nas amostras de folhelho F e carvão mineral C analisadas por ESI (+) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	58
Figura 2.24. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe NO na amostra P3, F e C analisadas por ESI (+) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	59
Figura 2.25. Distribuição relativa de classes em amostras de petróleo (P1, P2, P3), folhelho (F) e carvão mineral (C) analisadas por ESI (-) FT-ICR MS.....	60
Figura 2.26. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N na amostra P1 e P2, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	61
Figura 2.27. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N na amostra P3 e F, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	62
Figura 2.28. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe O ₂ na amostra P1 e P2, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	63
Figura 2.29. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe O ₂ na amostra F e C, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	64
Figura 2.30. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe NO ₂ na amostra P1, P2 e F, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	65
Figura 2.31. Distribuição do número de carbono versus DBE das classes O ₂ , O ₃ e O ₄ na amostra C, analisada por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	66

Figura 2.32. Distribuição do número de carbono versus DBE das classes O ₅ , O ₆ na amostra C, analisada por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.....	67
Figura 3.1. Exemplos de ácidos naftênicos encontrados no petróleo	72
Figura 3.2. Comparação das massas moleculares médias da Classe O ₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.....	74
Figura 3.3. Comparação da distribuição relativa de DBE da Classe O ₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.....	75
Figura 3.4. Comparação da distribuição relativa de DBE da Classe O ₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.....	76
Figura 3.5. Comparação da distribuição relativa de DBE da Classe O ₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.....	77
Figura 3.6. Distribuição hipotética de DBE e relação com a série homóloga.....	78
Figura 3.7. Distribuição do número de carbono versus DBE para a Classe O ₂ de amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS.....	79
Figura 3.8. Distribuição do número de carbono versus DBE para a Classe O ₂ de amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS.....	80
Figura 4.1. Exemplos de alguns compostos polares (N,S,O) presentes no petróleo ionizados por ESI.....	84
Figura 4.2. Efeito da distribuição de um sinal de m/z adquirido no modo contínuo (profile) e sua relação com o poder de resolução ($m/\Delta m_{50\%}$). a) Distribuição Gaussiana. b) Distribuição Lorenziana.....	85
Figura 4.3. Esquema do analisador de TOF <i>folded flight path</i> (FFP™) que equipa o LC-HRT Citius™	87
Figura 4.4. Modos de operação do LC-HRT Citius™ para a obtenção de resolução nominal, alta resolução e altíssima resolução. (A = acelerador e D = detector).....	88

- Figura 4.5.** Espectros de ESI (+) característicos para a amostra de Petróleo A obtido por FT-ICR MS **(a)** e UHRT MS **(b)**.....90
- Figura 4.6.** Expansão de 0,2 m/z em 400,2 – 400,4 m/z para a análise de ESI (+) da amostra de Petróleo A por **a)** FT-ICR MS (400.000@400) e **b)** UHRT MS (100.000@400).....91
- Figura 4.7.** Expansão de 0,1 m/z em 400,2 – 400,3 m/z para a análise de ESI (-) da amostra de Petróleo A por **a)** FT-ICR MS (400.000@400) e **b)** UHRT MS (100.000@400).....92
- Figura 4.8** Variação do poder de resolução em função da m/z obtida na análise de amostras de petróleo por FT-ICR MS e UHRT MS utilizando os dados de ESI (+) para a classe N.....93
- Figura 4.9.** Poder de resolução do UHRT MS e do FT-ICR MS em relação a m/z e a resolução mínima ($2m/\Delta m$) necessária para diferenciação de alguns dubletos isobáricos.....94
- Figura 4.10.** Exatidão para as medidas de m/z obtidas para a análise da amostra de Petróleo A por ESI (+) utilizando FT-ICR MS na resolução de 400.000@400 e UHRT MS na resolução de 100.000@400. Dados para a classe N após recalibração interna pelo PetroMS.....95
- Figura 4.11.** Distribuição relativa de classes de heteroátomos na amostra de Petróleo A identificadas por ESI (+) na faixa de 200 – 1000 m/z com FT-ICR MS e UHRT MS.....96
- Figura 4.12.** Diagrama de número de carbono vs DBE para a classe N observado por ESI (+) da amostra de Petróleo A utilizando UHRT MS e FT-ICR MS na faixa de 200 – 1000 m/z97
- Figura 4.13.** Distribuição de DBE para a classe N da amostra de Petróleo A por FT-ICR MS e UHRT MS por ESI (+) na faixa de 200 – 1000 m/z97
- Figura 4.14.** Distribuição relativa de classes de heteroátomos na amostra de Petróleo A identificadas por ESI (-) na faixa de 200 – 1000 m/z com FT-ICR MS e UHRT MS.....98
- Figura 4.15.** Diagrama de número de carbono vs DBE para a classe O₂ observado por ESI (-) da amostra de Petróleo A utilizando UHRT MS e FT-ICR MS na faixa de 200 – 1000 m/z99

- Figura 4.16.** Distribuição de DBE para a classe O₂ da amostra de Petróleo A por FT-ICR MS e UHRT MS por ESI (-) e faixa de 200 – 1000 *m/z*.....100
- Figura 4.17.** Distribuição de classes de heteroátomos obtidas pela análise por ESI (+) e ESI (-) da amostra de Petróleo B, através de FT-ICR MS em 400.000@400 e UHRT MS em 100.000@400 na faixa de 200 – 1000 *m/z*.....101
- Figura 4.18.** Comparação da distribuição das classes de heteroátomos no Petróleo A analisado por ESI (+) e ESI (-) UHRT MS nas faixas de 200-600 *m/z* e 200-1000 *m/z*.....101
- Figura 4.19.** Distribuição das classes de heteroátomos para três amostras de petróleo analisadas por ESI (+) e ESI (-) UHRT MS.....102
- Figura 4.20.** Distribuição de DBE para a classe N nas amostras de Petróleo 1, 2 e 3 por ESI (+) UHRT MS e faixa de 200 – 600 *m/z*.....103
- Figure 4.21.** Distribuição de DBE para a classe NO₂ obtida por ESI (+) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 600 *m/z*.....104
- Figura 4.22.** Distribuição de DBE para a classe O₂ obtida por ESI (-) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 1000 *m/z*.....105
- Figura 4.23.** Distribuição de DBE para a classe N obtida por ESI (-) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 1000 *m/z*.....105
- Figura 4.24.** Distribuição de DBE para a classe NO₂ obtida por ESI (-) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 1000 *m/z*.....106
- Figura 4.25.** Espectro de ESI (+) UHRT MS característico para a amostra de diesel adquirida na faixa de 200-600 *m/z*.....107
- Figura 4.26.** Distribuição da classe N para duas amostras de diesel analisadas por ESI (+) UHRT MS na faixa de 200-600 *m/z*. **a)** Distribuição relativa de DBE. **b)** Distribuição relativa de número de carbono.....108

- Figura 4.27.** Distribuição relativa da classe O₂ para duas amostras de diesel analisadas por ESI (-) UHRT MS na faixa de 200-600 *m/z*. **a)** Distribuição de DBE. **b)** Distribuição de número de carbono.....109
- Figura 5.1.** Diagrama esquemático do Synapt TWIM-MS HDMS (Waters Corp.). O setor de mobilidade *triwave* (T-wave) está localizado entre o quadrupolo e o TOF ortogonal e compreende um *trap*, a cela de mobilidade (IMS) e o *transfer*.....116
- Figura 5.2.** Diagrama esquemático da cela de mobilidade iônica (IMS) do Synapt TWIM-MS HDMS (Waters Corp). **a)** transferência dos íons do *trap* para a cela de mobilidade. **b)** separação dos pacotes de íons baseada nas suas seções de choque, por efeito do campo elétrico e *drif gas*.....117
- Figura 5.3.** Mobilidade por ESI (-) TWIM - MS para a mistura de ácidos carboxílicos lineares C12:0 (*m/z* 199), C14:0 (*m/z* 227), C16:0 (*m/z* 255), C18:0 (*m/z* 283), C20:0 (*m/z* 311), C22:0 (*m/z* 339), C24:0 (*m/z* 367). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 200 m·s⁻¹ e altura 30 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V.....118
- Figura 5.4.** Relação entre o aumento do número de carbono e *drift time* para a mistura de ácidos carboxílicos lineares. (Número de Carbono:Dupla Ligação – CN:DB).....119
- Figura 5.5.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura de ácidos carboxílicos lineares C18:0 até C18:3, respectivamente, esteárico (*m/z* 283), oleico (*m/z* 281), linoleico (*m/z* 279) e linolênico (*m/z* 277). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 200 m·s⁻¹ e altura 30 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V.....120
- Figure 5.6.** Relação entre o número de duplas ligações de geometria Z e *drift time* de ácidos carboxílicos lineares C18.....121
- Figura 5.7.** Influência do DBE e número de carbono no *drift time* de ácidos carboxílicos cíclicos. Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 700 m·s⁻¹ e altura 26 V.....122

- Figure 5.8.** Influência do DBE e número de carbono no *drift time* de ácidos carboxílicos cíclicos.....123
- Figura 5.9.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura de ácido benzóico (m/z 121) e ciclo-hexanóico (m/z 127). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 320 m·s⁻¹ e altura 30 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 700 m·s⁻¹ e altura 26 V.....124
- Figura 5.10.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura de ácido benzóico (m/z 121), [²H₅]-benzóico (m/z 126) e ciclo-hexanóico (m/z 127). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 320 m·s⁻¹ e altura 30 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 700 m·s⁻¹ e altura 26 V. O sinal em 4,09 ms representa o *drift time* do isotópologo do ácido benzóico perdeuterado contendo ¹³C₁.....125
- Figura 5.11.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura dos ácidos C-8 cíclicos (3-ciclo-pentil-propionico e 4- metil - 1 - ciclo - hexano - carboxílico, m/z 141) e linear (octanóico, m/z 143). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 280 m·s⁻¹ e altura 30 V. m/z 141 dt = 4.64 ms, m/z 143 dt = 5.22 ms. **b)** 2,4 mbar de N₂, velocidade da onda 400 m·s⁻¹ e altura 26 V. m/z 141 dt = 4.32 ms, m/z 143 dt = 4.77 ms.....126
- Figura 5.12.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura do ácidos 1,2,3,4-tetra-hidro-2-naftóico e o isômero 5,6,7,8-tetra-hidro-2- naftóico. Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. **b)** 2,1 mbar de N₂, velocidade da onda 320 m·s⁻¹ e altura 30 V.....127
- Figura 5.13.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura do ácidos α e β ergostanóicos (R = H). Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 220 m·s⁻¹ e altura 26 V.....128
- Figura 5.14.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura do ácidos α e β ergostanóicos (R = etil). Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 220 m·s⁻¹ e altura 26 V.....129

- Figura 5.15.** Espectro de massas típico (*full scan*) para uma amostra de petróleo utilizando Synapt TWIM-MS HDMS (Waters Corp.) por ESI (-).....130
- Figura 5.16.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a fração ácida do corte de destilação 1 utilizando 1,2 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. O gráfico de *drift time* vs número de carbono evidencia a tendência da diminuição do *drift time* com o aumento da DBE.....131
- Figura 5.17.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a fração ácida do corte de destilação 2 utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. O gráfico de *drift time* vs número de carbono evidencia a tendência da diminuição do *drift time* com o aumento da DBE.....132
- Figura 5.18.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo A utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. As áreas marcadas indicam a mobilidade para a Classe O₂ e para a Classe N. Os gráficos de número de carbono vs DBE representam as distribuições destas classes avaliadas por ESI (-) FT-ICR MS133
- Figura 5.19.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo B utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. As áreas marcadas indicam a mobilidade para a Classe O₂ e para a Classe N. Os gráficos de número de carbono vs DBE representam as distribuições destas classes avaliadas por ESI (-) FT-ICR MS..134
- Figura 5.20.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo C utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V. A área marcada indica a mobilidade para a Classe NO.....135
- Figura 5.21.** Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo D utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V. A área marcada indica a mobilidade para a Classe NO.....135

CAPÍTULO 1

Aplicações da Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução e da Mobilidade Iônica Acoplada a Espectrometria de Massas em Estudos de Geoquímica Orgânica

1.1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1.1. Petróleo: Formação, Composição e Propriedades

O petróleo ou óleo cru é conhecido e utilizado a longo tempo. Arqueólogos identificaram sua extração e uso por civilizações já a 7 - 9 mil anos. Foi utilizado por civilizações antigas como remédio, na construção civil misturando betume ao cimento, na impermeabilização com piche e nas guerras antigas como bomba incendiária (fogo grego) (Simanzhenkov e Idem, 2003). M.V. Lomonosov foi um dos primeiros cientistas a introduzir um conceito razoável de formação do petróleo no século XVIII. Para ele petróleo, piche, carvão mineral e materiais similares possuíam a mesma origem orgânica. A história da indústria petrolífera é bem mais recente e a produção industrial começou com a exploração do primeiro poço de apenas 22 metros de profundidade em Oil Creek, Pensilvânia em 27 de agosto de 1859. Em 1878 Alfred B. Nobel e irmãos formaram a Naphtha Company Brothers Nobel e passaram a extrair petróleo em Baku, Rússia e transportar por oleodutos para a refinaria (Simanzhenkov e Idem, 2003). Hoje explora-se petróleo de reservatórios cujos poços alcançam até 7000 metros de profundidade.

O petróleo é um óleo mineral considerado como a mistura de compostos orgânicos mais complexa presente na natureza (Tissot e Welte, 1984). A análise desta mistura é um dos maiores desafios da química. Seus componentes podem ser classificados em quatro grupos principais: hidrocarbonetos saturados (parafinas e naftênicos), hidrocarbonetos aromáticos, resinas e asfaltenos e uma pequena porcentagem de metais, em particular o vanádio, níquel, ferro e cobre (<100 ppb). De acordo com a teoria orgânica moderna, o petróleo se formou a

partir da matéria orgânica depositada em bacias sedimentares ao longo do tempo geológico (**Figura 1.1**).

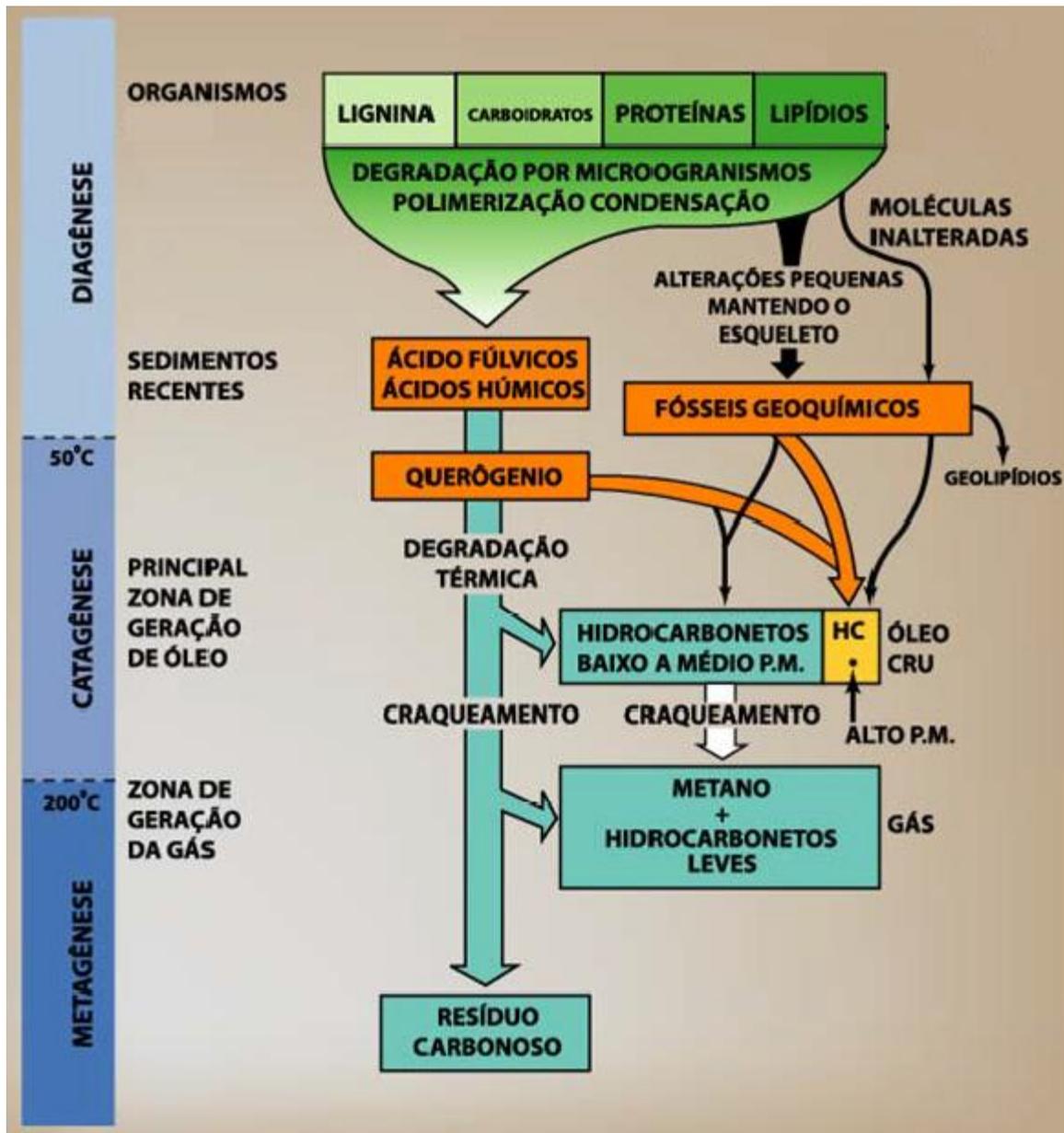


Figura 1.1. Formação do petróleo. (Adaptado de Restlé, 1984).

A fração de hidrocarbonetos pode compreender até 90% em massa nos óleos leves e cerca de 70% no petróleo pesado. As espécies heteroatômicas

polares representam 5%, podendo chegar a 15% nos óleos pesados. E os compostos aromáticos em torno de 30% (Speight, 2001) (**Figura 1.2**).

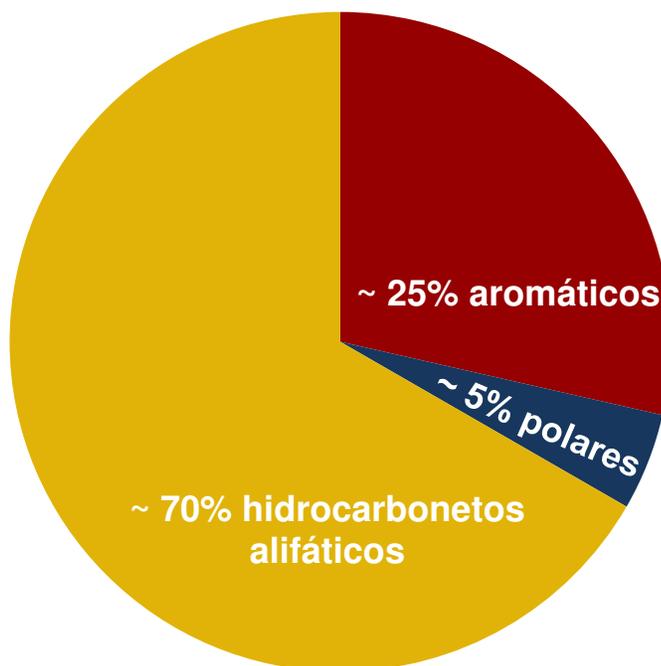
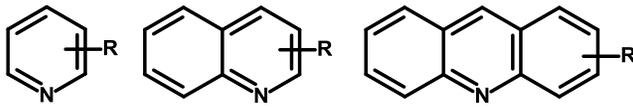


Figura 1.2. Compostos orgânicos do petróleo.

A **Figura 1.3** exemplifica alguns compostos polares contendo N, S, O encontrados no petróleo. Além destes compostos o petróleo ainda contém complexos metálicos porfirínicos e não porfirínicos (**Figura 1.4**) (Amorin *et al.* 2007).

A composição química do petróleo é dependente de diversos fatores, como por exemplo: a) do tipo de matéria orgânica que o gerou; b) da oxidação e de outros processos que ocorreram no ambiente deposicional; c) da migração entre a rocha geradora e o reservatório; d) das transformações que ocorreram dentro do reservatório: física - difusão ou adição de novos compostos devido à migração (metais); e químicas - maturação térmica (craqueamento secundário) e biodegradação.

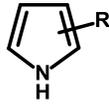
COMPOSTOS NITROGENADOS



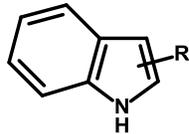
piridina

quinolina

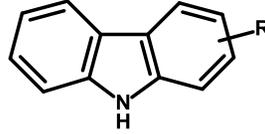
acridina



pirrol

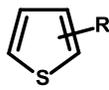


indol

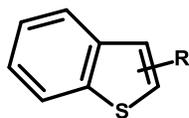


carbazol

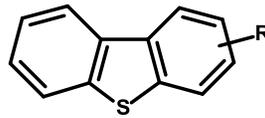
COMPOSTOS SULFURADOS



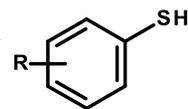
tiofeno



benzotiofeno

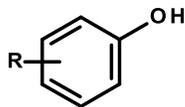


dibenzotiofeno

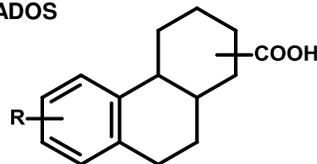


tiofenol

COMPOSTOS OXIGENADOS



fenol



ácidos carboxílicos

Figura 1.3. Exemplos de compostos polares contendo N, S e O encontrados no petróleo.

O conhecimento da magnitude destes fatores também permite entender e inferir a composição molecular do petróleo (Tissot e Welte, 1984). O conhecimento da composição do petróleo é de extrema importância em toda a cadeia petrolífera. O lucro das empresas petrolíferas está relacionado com a composição do petróleo e dos seus derivados comercializados, quanto mais leve e livre de impurezas (como compostos de nitrogênio e enxofre) maior é o valor agregado destas *commodities*. Na fase exploratória, o conhecimento da composição do petróleo é crucial para correlações óleo-rocha geradora, aplicação industrial mais comum da geoquímica de petróleo. O objetivo da correlação óleo-rocha geradora é, através da composição de um determinado petróleo e da matéria orgânica de uma rocha

geradora, afirmar pelas composições, se aquele petróleo é proveniente da rocha geradora em questão (Curriale 2008).

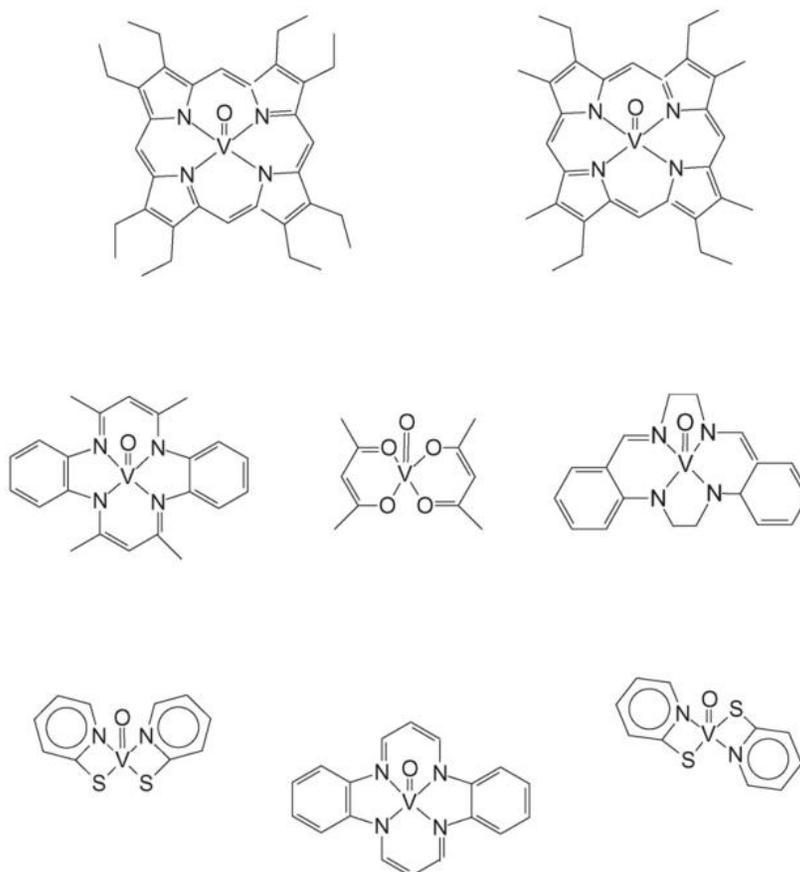


Figura 1.4. Complexos porfirínicos e não porfirínicos de vanádio encontrados no petróleo (Segundo Amorin *et al.* 2007).

O conhecimento da composição do petróleo é fundamental para os processos de refino, permitindo o uso mais eficiente do petróleo e evitando problemas como entupimentos de dutos, corrosão, envenenamento de catalisadores, etc. causados pela precipitação de asfaltenos, formação de emulsões e depósitos de naftenatos de sódio e cálcio, respectivamente.

O petróleo varia dramaticamente em odor, cor, composição e propriedades como densidade e viscosidade, que refletem a sua origem, nível de maturação, evolução térmica, grau de biodegradação, processos de migração e outros. Pode-se definir petróleo leve e pesado baseado na riqueza de constituintes de baixo

ponto de ebulição e compostos mais aromáticos de maior ponto de ebulição e contendo heteroátomos. Com o decréscimo mundial das reservas de óleo leve está se utilizando fontes cada vez mais pesadas e tem-se uma maior necessidade de identificação dos compostos destes óleos pesados para garantir o seu processamento e uso pela indústria petrolífera/petroquímica. O interesse na produção de derivados utilizando óleo pesado iniciou-se na crise energética dos anos 70 e 80 com a necessidade de desenvolvimento de métodos mais eficientes para a exploração destes óleos, devido ao esgotamento de reservas de petróleo de melhor qualidade.

Tecnicamente não é possível separar o petróleo em todos os seus componentes individuais. Deste modo a análise completa de todos compostos presentes em determinada amostra de petróleo é impossível de ser obtida. O importante para caracterizar e processar o petróleo é avaliar as frações de diferentes faixas de pontos de ebulição (cortes de destilação) e determinar suas propriedades e composições médias (ver **Figura 1.5**).

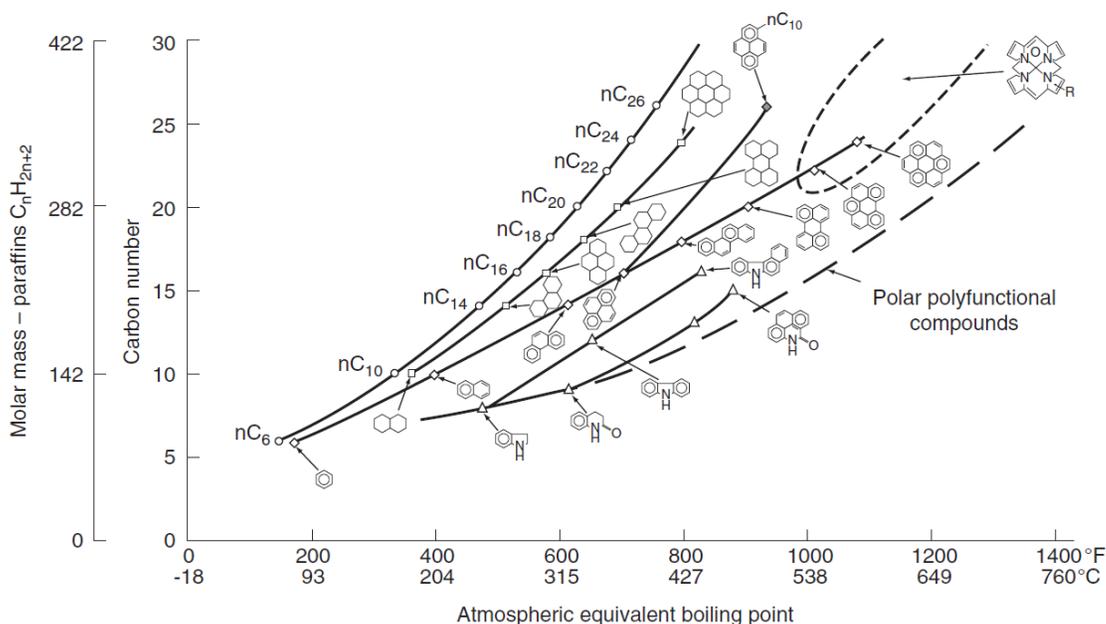


Figura 1.5. Evolução da massa molar e da composição química em função do ponto de ebulição (Altgelt e Boduszynski, 1994).

Até 350 °C as frações de destilação (cortes de destilação) são separadas na pressão atmosférica (frações leves) em:

- Até 140 °C: gasolina
- 140 – 180 °C: nafta
- 180 – 240 °C: querosene
- 240 – 350 °C: diesel

O material restante é denominado de resíduo atmosférico e é destilado a baixa pressão:

- 350 – 500 °C: gasóleo
- Acima de 500 °C: resíduo de vácuo

No resíduo de destilação a vácuo encontra-se os asfaltenos. Estruturalmente são sistemas de anéis aromáticos polinucleares condensados, com cadeias laterais alquílicas (**Figura 1.6**).

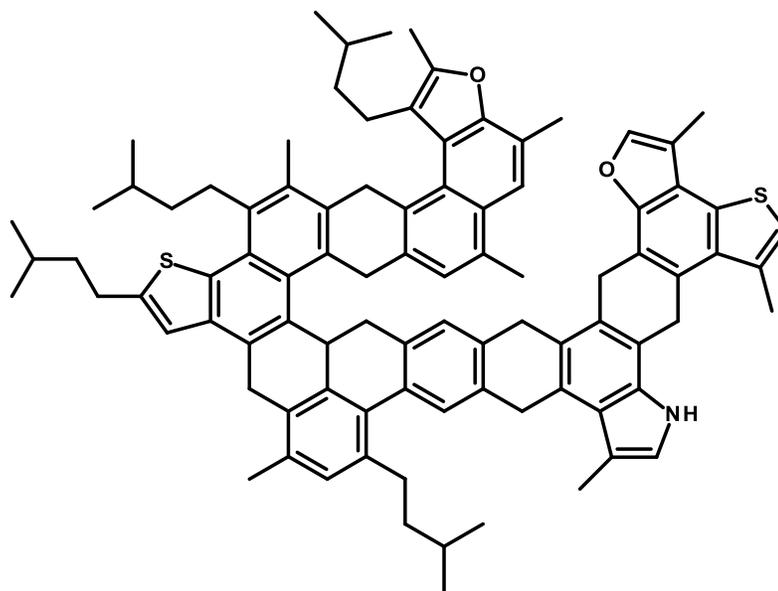


Figura 1.6. Modelo de molécula de asfalto.

A fração asfáltica é uma mistura complexa de moléculas polidispersas em termos de tamanho e composição química, com aromaticidade variável e conteúdo distinto de heteroátomos e metais (Merdrignac e Espinat, 2007). Os asfaltenos tem a propriedade de formar emulsões e depósitos que podem entupir dutos e equipamentos nos poços em produção e nas refinarias. Junto com metais, notadamente Ni, V, formam depósitos de coque que desativam os catalisadores utilizados no refino e no hidrotreatamento dos derivados de petróleo (Simanzhenkov e Idem, 2003).

Em relação aos rendimentos e quantidades das diversas frações que podem ser obtidas nos processos de refino, os petróleos podem ser classificados em função das categorias de hidrocarbonetos existentes em sua composição: parafinas, naftênicos e aromáticos (**Figura 1.7**).

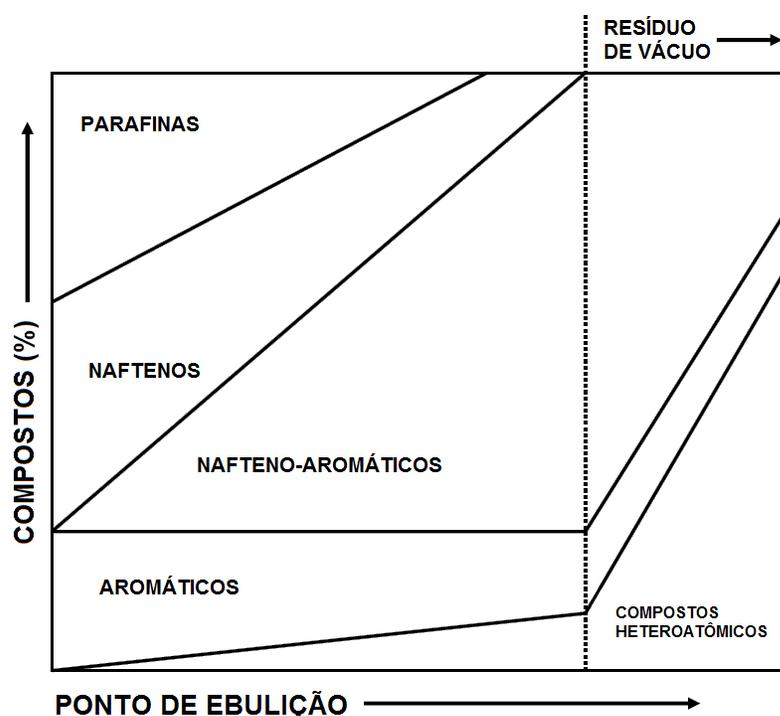


Figura 1.7. Distribuição dos compostos presentes no petróleo relacionados com o ponto de ebulição.

Segundo Simanzhenkov e Idem, (2003):

- Petróleos parafínicos: apresentam teores de parafinas acima de 75%, normalmente possuem baixos teores de resinas e asfaltenos. Os compostos aromáticos são de anéis simples ou bicíclios. São leves, fluidos ou de alto ponto de fluidez e possuem baixos teores de enxofre.
- Petróleos naftênico - parafínicos: apresentam de 50 a 70% de parafinas e teores de naftênicos acima de 20%, resinas de 5 a 15 %. São mais densos e viscosos que os parafínicos e os teores de enxofre são menores que 1%.
- Petróleos naftênicos: apresentam teores de naftênicos maiores que 70% e baixo teor de enxofre. São originados da alteração bioquímica dos óleos parafínicos e parafino-naftênicos.
- Petróleos aromáticos intermediários: teores aromáticos maiores que 50%. São petróleos pesados com asfaltenos e resinas em 10 a 30% e teores de enxofre superiores a 1%.
- Petróleos aromático-naftênicos: derivados dos petróleos parafínicos e dos parafínico-naftênicos, onde sofreram processo inicial de biodegradação com remoção das parafinas. Possuem na sua composição valores de resinas e asfaltenos maiores que 25% e teores de enxofre compreendidos entre 0,4 e 1%.
- Petróleos aromático-asfálticos: os processos de biodegradação avançada resultaram em óleos com altos teores de asfaltenos e resinas. Além de teores de enxofre na faixa de 1 a 9%.

A classificação do petróleo mais utilizada, especialmente nas refinarias, é o fator de caracterização *UOP* (K_{UOP}). É definido pela expressão:

$$K_{UOP} = (T_B)^{1/3}/d$$

onde T_B é o ponto médio de ebulição na escala Rankine ($^{\circ}F + 460$) e d é a densidade a 60/60 $^{\circ}F$. Óleos altamente parafínicos apresentam K_{UOP} na faixa de

12,5 a 13 e óleos cíclicos (naftênicos) apresentam K_{UOP} na faixa de 10,5 a 12,5 (Speight 2007).

A **Tabela 1.1** apresenta outra classificação de petróleo bastante utilizada, a qual é baseada na solubilidade dos seus diferentes constituintes em quatro grupos principais: Saturados, Aromáticos, Resinas e Asfaltenos e os sistemas de solventes em que estas classes são solúveis e insolúveis (método SARA).

Tabela 1.1. Componentes do petróleo (SARA) baseados na solubilidade/insolubilidade

classificação	solúvel	insolúvel
Saturados	Heptano/alcanos	-
Aromáticos	Heptano/tolueno	-
Resinas	Heptano/tolueno/metanol	-
Asfaltenos	tolueno	heptano

A densidade também é uma medida de extrema importância para a indústria petrolífera e uma maneira de expressar a densidade é pelo grau API onde:

$$^{\circ}\text{API} = (141,5/d_{60/60}) - 131,5$$

onde, $d_{60/60}$ é a densidade relativa do petróleo a 60°F.

O grau API permite classificar o petróleo em:

- Petróleo leve ou base parafínica: possui $^{\circ}\text{API}$ maior que 31,1. Contém além de alcanos uma porcentagem de 15 a 25 % de cicloalcanos. Exemplos: Petróleo Baiano e Árabe Leve.
- Petróleo médio ou de base naftênica: possui $^{\circ}\text{API}$ entre 22,3 e 31,1. Além de alcanos contém 25 a 30 % de hidrocarbonetos aromáticos. Exemplo: Petróleo da Bacia de Campos.
- Petróleo pesado ou de base aromática: possui $^{\circ}\text{API}$ menor que 22,3 e é constituído praticamente por hidrocarbonetos aromáticos e cicloalcanos. Exemplos: Petróleo Abacora e Marlim.

- Petróleo extra-pesado: Possui $^{\circ}\text{API}$ menor que 10. Exemplo: Petróleo Venezuela.

A medida da acidez do petróleo também é um parâmetro importante na classificação dos diversos óleos crus. Utiliza-se o número de acidez total (TAN). O valor de TAN representa a quantidade de base expressa em miligrama de KOH (solução 0,1 mol/L em álcool isopropílico) utilizada para neutralizar a fração ácida existente em um grama de petróleo.

Estas classificações gerais refletem, mas não fornecem a composição do petróleo. A análise composicional do petróleo e derivados é a etapa chave para os processos da indústria petrolífera e demanda tempo e investimentos em técnicas capazes de analisar matrizes de alta complexidade. As limitações das técnicas analíticas podem ser no mínimo quatro: resolução inadequada das técnicas de separação, resolução instrumental insuficiente, detectabilidade instrumental insuficiente, a faixa aplicada ao método analítico e sua validação.

A análise composicional do óleo cru ou cortes de destilação por infravermelho (IR) e ressonância magnética nuclear (NMR) fornece uma análise global das moléculas da amostra onde a resposta analítica é a somatória das respostas dos analitos. Ao contrário, a cromatografia a gás (GC) e a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) fornecem uma informações detalhadas, permitindo quantificar componentes individuais das amostras. Existe uma gama de técnicas analíticas aplicadas à química de petróleo para determinar a composição do óleo cru e inferir os fatores da sua alteração (como biodegradação e evolução térmica, por ex.), contaminantes e também técnicas aplicadas no controle dos produtos de refino e na produção de combustíveis.

Como comentado anteriormente é fundamental para a indústria petrolífera conhecer a composição detalhada da sua matéria prima, o petróleo. Identificar os metais presentes nesta matriz complexa e quantificá-los. Analisar os hidrocarbonetos parafínicos, aromáticos, heteroaromáticos e resinas para destinar a aplicação de um determinado tipo de petróleo, controlar contaminantes, etc. Por

exemplo, compostos que contêm enxofre estão associados com efeitos adversos como, envenenamento de catalisadores, corrosão e poluição por chuva ácida produzida pela queima de combustíveis fósseis (Moustafa e Andersson, 2011). Na Europa a concentração máxima permitida de enxofre em combustíveis para transporte é de 10 ppm. Para reduzir os níveis de enxofre utiliza-se a hidrogenação catalítica com catalisador de cobalto-molibdênio. Alguns metais como V são capazes de envenenar estes catalisadores sendo necessário determinar a concentração deste metal no óleo cru e retirá-lo antes da etapa de hidrotratamento.

A determinação dos compostos polares é de extrema importância, já que estas espécies contribuem para a deposição de sólidos, floculação e desativação de catalisadores, refletindo em problemas de armazenamento e corrosão na exploração e nas refinarias. As espécies contendo oxigênio são encontradas na forma de fenóis e ácidos carboxílicos. Estes compostos oxigenados são conhecidos por serem os principais contribuintes para a corrosão dos equipamentos durante o processo de elevação e refinamento de produtos petrolíferos. Os compostos de nitrogênio básicos são principalmente piridinas e ocorrem durante quase todos os intervalos do fracionamento, com tendência a existirem em maior abundância nas frações de alto ponto de ebulição e nos resíduos. Os compostos de nitrogênio neutro, que são geralmente pirróis, indóis e carbazóis, estão presentes em faixas de frações com maior ponto de ebulição e no resíduo de destilação. Os compostos nitrogenados são geralmente encontrados em pequenas concentrações, de no máximo 0,9% em massa do petróleo bruto (Altgelt e Boduzynski, 1994). A análise dos compostos polares é de extrema importância para o gerenciamento de processos de refino e para determinar o valor econômico do petróleo (Marshall e Rodgers, 2004).

1.1.2. Principais técnicas analíticas empregadas na análise orgânica do petróleo

Várias técnicas analíticas têm sido utilizadas na análise dos componentes orgânicos do petróleo como GC-FID (cromatografia a gas com detecção por ionização de chama), GC-MS (cromatografia a gas acoplada a espectrometria de massas, GC x GC (cromatografia a gas bidimensional), CE (eletroforese capilar), HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência), NMR (ressonância magnética nuclear), fluorescência e mais recentemente o uso de FT-ICR MS (Rodgers e McKenna, 2011).

Fluorescência e fosforescência. A espectroscopia de fluorescência e fosforescência é geralmente referida como fluorimetria e utiliza a propriedade de algumas substâncias de emitirem radiação eletromagnética em determinado comprimento de onda. O efeito de fluorescência ocorre quando um elétron move-se de uma órbita de nível de maior energia para um nível de menor energia. Inicialmente o elétron do átomo passa de um estado de energia para outro de maior energia ao absorver a radiação monocromática da fonte do fluorímetro. Fluorimetria é útil na determinação de compostos poliaromáticos e aromáticos heteroatômicos no petróleo e seus derivados. Juyal *et al.* (2011) determinaram a origem da cor azul de uma amostra do petróleo do Golfo do México. Pelo espectro de emissão-excitação foi possível determinar que a origem da cor é devida a alta concentração de perileno. Outras técnicas adicionais foram utilizadas para caracterizar esta amostra e determinar a origem de depósitos e o nível de biodegradação da mesma.

Os derrames de petróleo são uma preocupação constante pelo impacto ambiental que óleo cru causa no ecossistema marinho e terrestre. Identificar o tipo óleo do derrame é crucial para atribuir sua origem e também implementar estratégias de remediação. Os métodos comumente aplicados necessitam de preparo de amostra (extração e concentração) prévia a análise em GC-FID, GC-MS e HPLC. O uso de espectroscopia de fluorescência de UV possibilita a

identificação rápida e quantitativa de vários compostos orgânicos na água do mar. Bugden *et al.* (2008) utilizaram a fluorescência de UV para análise de *fingerprint* de 8 amostras de petróleo e o método utilizado permitem identificar e monitorar compostos no petróleo disperso no mar aberto. Os gráficos de contorno de excitação-emissão obtidos foram característicos para cada amostra de petróleo e permitiram diferenciar as mesmas. Os espectros também refletiram o nível de aromaticidade das amostras que pode estar correlacionado com a ecotoxicidade das mesmas.

Infravermelho (IR). A espectroscopia de infravermelho é baseada na habilidade das substâncias absorverem radiação eletromagnética de determinado comprimento de onda provocando vibrações das moléculas. É importante na química de petróleo pela variedade de preparação de amostra e informação obtida. Um espectrômetro de infravermelho apresenta uma fonte de radiação infravermelho, uma câmara para a amostra, um monocromador, um amplificador e um sistema de aquisição dos dados (computador). A fonte de infravermelho geralmente é uma placa feita de óxido de zircônio, ítrio e outros metais. Outra fonte comumente utilizada é de cerâmica. Na FT-IR (espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier) não se tem monocromador, tem-se um interferômetro. O equipamento por FT-IR é mais simples que os equipamentos tradicionais, possuindo um número menor de peças móveis e utiliza dois espelhos como interferômetros. A aquisição do espectro é muito mais rápida. Utiliza um laser de He-Ne que permite uma calibração interna do sistema com precisão de número de onda da ordem de $0,01 \text{ cm}^{-1}$. Como a amostra nos equipamentos de FT estão mais afastadas da fonte não existe efeito de decomposição térmica. IR é utilizado para informação sobre os grupos CH_n e principalmente para a determinação de grupos polares como OH, NH e CO. Também é uma técnica quantitativa mediante o uso de curvas de calibração para bandas de distintos grupos funcionais. O petróleo e frações podem ser caracterizados em termos de oxidação, aromaticidade, cadeias alquílicas e ramificações. IR pode ser utilizado na caracterização de frações pesadas, resíduos de vácuo e asfaltenos (Ai-Jun *et*

al. 2007; Coelho *et al.* 2006). Em muitos casos além da técnica analítica utiliza-se modelagem e quimiometria.

Raman. A espectroscopia Raman fornece resultados similares ao infravermelho (IR). Normalmente é utilizada em combinação com IR. A vantagem em relação ao IR é poder trabalhar amostras contendo água, pois a mesma não causa interferência. Também pode-se utilizar celas de quartzo ou vidro. Uma desvantagem é a interferência por fluorescência (superado pelo uso de fontes no infravermelho próximo). O efeito Raman surge da interação da radiação monocromática com o orbital atômico. Esta interação é independente do comprimento de onda da irradiação eletromagnética usada na análise. Normalmente os espectros Raman são obtidos irradiando-se uma amostra com uma fonte de laser potente de radiação monocromática no visível ou no infravermelho próximo. A intensidade de um pico Raman depende da polarizabilidade da molécula, da intensidade da fonte e da concentração do grupo ativo e de outros fatores. Geralmente as intensidades são diretamente proporcionais à concentração da espécie ativa. De maneira simplificada um instrumento para espectroscopia Raman possui uma fonte de laser, um sistema de iluminação da amostra e um espectrômetro apropriado. A espectroscopia Raman é utilizada para estudar frações orgânicas pesadas de petróleo, asfaltenos e contaminantes em óleos lubrificantes. Bouhadda *et al.* (2007) utilizaram Raman no estudo de asfaltenos. A caracterização de agregados no estado sólido foi comparada com os resultados de difração de raios-X e se mostrou consistente. A análise destes resultados mostrou que em média um agregado apresenta oito moléculas de asfaleno.

UV/Vis. A espectroscopia de ultra-violeta/visível (UV/vis) se baseia no princípio de que moléculas são capazes de absorver energia de uma fonte em uma faixa de comprimentos de onda, atenuando a potência radiante da fonte incidente e transmitindo a radiação não absorvida. A relação entre a potência radiante transmitida pela solução e a inicial se relaciona (não diretamente) com a concentração da espécie absorvente. Na química de petróleo é utilizada para

determinar a concentração de determinados analitos e para caracterizar o espectro de absorção de determinadas substâncias, principalmente compostos heteroatômicos aromáticos de maneira quantitativa. O espectrômetro é composto de uma fonte de radiação eletromagnética, um monocromador, uma cela para a amostra, o detector e o sistema de aquisição de dados. O padrão e a resolução dos espectros não é suficientemente distinto para reconhecer ou distinguir compostos em misturas complexas, mas é útil na identificação de frações quanto utilizado detectores de arranjo de fotodiodos (DAD) em HPLC.

Ressonância Magnética Nuclear: ^1H NMR e ^{13}C NMR. A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR) é utilizada para determinar diretamente a quantidade de carbonos aromáticos, alifáticos e a distribuição de hidrogênios seja no petróleo ou em frações. Na ^1H NMR de petróleo pode-se distinguir os hidrogênios aromáticos e os hidrogênios nas posições α , β e γ ao anel aromático. Com ^{13}C NMR dois tipos principais de carbono podem ser distinguidos, aromáticos e alifáticos. NMR está baseada na medida da absorção de radiação eletromagnética na região de radiofrequência (RF) na faixa de 4 a 900 MHz (dependendo do núcleo a ser estudado (^1H , ^{13}C) e do campo magnético do instrumento). Boa parte dos espectrômetros de hoje são de ondas pulsadas (FT-NMR). Um espectrômetro de FT-NMR apresenta um magneto de alto campo, um gerador de RF pulsada, um transmissor de RF, um amplificador de RF, um detector de fase e um computador para controlar os parâmetros de aquisição e adquirir o sinal de transiente (FID) e transformá-lo do domínio de tempo para o domínio de frequências utilizando a transformada de Fourier (FT). A análise por NMR de amostras complexas como o petróleo ou suas frações só é possível mediante o uso de quimiometria. Como um exemplo tem-se o trabalho de Molina *et al.* 2010 que correlacionaram as frações SARA e suas propriedades físico-químicas com os espectros de ^1H NMR de resíduo de vácuo de petróleos da Colômbia. Os instrumentos de onda contínua são de baixo campo e utilizados para determinar o grau de hidrogenação no processamento de petróleo e também de água. Outra aplicação dos instrumentos de baixo campo é estudar a viscosidade do petróleo baseada no tempo de relaxamento da amostra. Ramos *et*

al. 2009 avaliaram o tempo de relaxamento de 68 amostras de petróleo brasileiro em NMR de bancada (2 MHz para ^1H , campo magnético de 460 Gauss). O tempo de relaxamento é característico para cada óleo (desde leve até extra-pesado). A análise destes resultados permite a construção de um modelo para prever a viscosidade de uma amostra desconhecida.

Cromatografia a gás (GC, GC x GC). A cromatografia é provavelmente a técnica analítica mais importante e mais antiga aplicada à química de petróleo. Na cromatografia a gás a fase móvel é o gás e a fase estacionária é líquida ou sólida em alguns casos (com sorventes como alumina, sílica gel, peneiras moleculares, carvão ativado) e separa os componentes voláteis termicamente estáveis das amostras. Tornou-se popular por necessitar de pouca amostra. A maior desvantagem da técnica é a necessidade dos analitos passarem para a fase gasosa (utiliza-se uma temperatura de até 450 °C). Portanto, os analitos devem ser estáveis e voláteis à temperatura de análise. Para frações pesadas de petróleo pode-se acoplar um sistema de pirólise ao GC. Um cromatógrafo a gás simplificado possui: um forno de temperatura controlada e variável, uma coluna com a fase estacionária, um sistema de introdução de amostra, um detector, uma linha de gás (fase móvel) e um sistema de aquisição e análise dos dados (computador). Permite a separação dos compostos, identificação e detecção quantitativa em corridas analíticas que duram desde minutos até horas, dependendo da complexidade da mistura a ser analisada. No caso de petróleo, utiliza-se GC para a análise de cortes de destilação de frações mais leves como gasolina, querosene e diesel. O uso de colunas capilares de sílica fundida de 0,1 a 1 mm de diâmetro e comprimentos de 20 a 100 m permite separações com alta resolução. O interior da coluna é revestido com um fino filme (1 a 3 μm) da fase líquida estacionária. O detector mais utilizado é o de ionização por chama e apresenta uma ampla faixa dinâmica. O analito eluído pela coluna é queimado em uma chama de hidrogênio com ar sintético (usado para obter uma queima mais limpa). Os elétrons formados na queima (ex. $\text{CH} + \text{O} \rightarrow \text{CHO}^+ + \text{e}^-$) geram sinais elétricos no detector (eletrodo coletor). GC é geralmente a técnica de escolha para a análise de petróleo. No entanto, dependendo do tipo de amostra, tem-se uma

grande quantidade de compostos não identificados. Em um estudo de óleos biodegradados foi estimado que 250 mil compostos não puderam ser determinados pela alta complexidade das amostras pela análise por GC (Borgund *et al.* 2007), necessitando de técnicas auxiliares. O uso da cromatografia a gás em linha para a determinação da distribuição de n-parafinas em cortes de destilação em plantas de refinarias já é uma realidade. Também se utiliza a cromatografia a gás no estudo de destilação simulada. Nos últimos anos, tem crescido o número de aplicações de GC x GC na caracterização de petróleo e frações leves e médias de petróleo. Equipamentos mais recentes conseguem operar a temperaturas mais altas. Desta maneira, GC x GC também está sendo aplicada a análise de gasóleo e resíduo de destilação a vácuo. Dutriez *et al.* (2010) utilizaram a técnica de GC x GC a alta temperatura para analisar distintas amostras de gasóleo. Pode-se observar uma boa separação de classes baseada no grau de aromaticidade. Os resultados indicaram utilidade promissora do GC x GC na análise de frações pesadas de petróleo. Além do detector por ionização de chama comumente acopla-se GC e GC x GC a espectrômetros de massas com analisadores do tipo quadrupolo, *ion trap* e TOF, sendo a fonte de ionização por elétrons.

Cromatografia líquida (HPLC). A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi desenvolvida nos anos 60 e complementa a análise de petróleo, por permitir a análise de analitos que não podem ser analisados pela cromatografia a gás (seja pela instabilidade térmica destes analitos ou não volatilidade). Torna-se portanto, a escolha ideal na análise das frações pesadas do petróleo (alguns óleos possuem mais de 80 % de compostos pesados). Nesta técnica, tem-se uma fase móvel líquida bombeada através de uma coluna contendo a fase estacionária em partículas que variam de 3 a 5 μm . Os analitos normalmente são detectados por métodos ópticos (detectores de UV/vis, fluorescência, etc.). O maior uso do HPLC acoplado a um detector UV é a identificação e quantificação de compostos aromáticos, utilizando colunas de fase normal (sílica, amino) ou fase reversa (ciano, C-18). Saravanabhavan *et al.* (2007) reportaram o uso de HPLC multidimensional *offline* para a separação de hidrocarbonetos poliaromáticos (PAH) de frações de gasóleo pesado (ponto de ebulição 287 - 481 °C). Foi

possível separar PAH não substituídos e substituídos, e realizada a quantificação de naftaleno, dibenzotiofeno, fenantreno e fluoreno. Este estudo com RP-HPLC-DAD não substitui os métodos de GC-MS, principalmente porque não pode analisar hidrocarbonetos saturados, mas para alguns alquil-PAH, como alquil-fenantrenos e alquil-antracenos, é melhor que a GC-MS. HPLC também é utilizada acoplada à espectrometria de massas com fontes de ionização à pressão atmosférica (API) do tipo ESI (ionização por *electrospray*), APCI (ionização química à pressão atmosférica) e APPI (fotoionização à pressão atmosférica).

1.1.3. Petroleômica

A espectrometria de massas de ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) constitui-se em uma ferramenta poderosa na caracterização de amostras de petróleo de distintas origens e composição. O altíssimo poder de resolução ($m/\Delta m_{50\%}$) e exatidão faz com que seja a técnica ideal para a análise de amostras de petróleo sem preparo da amostra, de matéria orgânica dissolvida em sedimentos e outras amostras complexas (Marshall e Rodgers, 2008; Koch *et al.* 2005; Kujawinski *et al.* 2009). O desenvolvimento do FT-ICR MS no início da década de 1970 (Comisarow e Marshall, 1974; Marshall, 1985) tornou possível a obtenção de espectros com altíssima resolução (poder de resolução $m/\Delta m_{50\%} > 100.000$) e exatidão de massas com erros na faixa de ppb (partes por bilhão).

Uma nova fronteira na caracterização de petróleo surgiu através do desenvolvimento da Petroleômica, a qual utiliza a ionização por *electrospray* (ESI) e a espectrometria de massas por transformada de Fourier (FT-ICR MS). A petroleômica por ESI-FT-ICR MS permite a análise e classificação dos compostos polares presentes em óleos, que pode revelar um conjunto maior de informações importantes para diversos aspectos geoquímicos, em exploração e refino, tais como: origem, nível de biodegradação, grau de evolução térmica, acidez, corrosividade, etc. Desde modo, FT-ICR MS constitui-se em uma ferramenta poderosa na caracterização de amostras de petróleo de distintas origens e

composição pela sua altíssima resolução e exatidão (Marshall e Rodgers 2008). A petroleômica tem sido utilizada com muito sucesso na caracterização do petróleo bruto e suas frações, incluindo os asfaltenos e os derivados de refino.

Séries de compostos polares podem ser analisadas em poucos minutos diretamente de uma amostra bruta, determinando-se assim a presença e quantidade relativa de classes, suas séries homólogas, número de carbonos e DBE por meio da apresentação dos resultados em diagramas específicos. DBE (equivalentes de duplas ligações) é igual ao número de anéis e duplas ligações na estrutura molecular e é calculado como:

$$\text{DBE} = c - h/2 + n/2 + 1$$

onde, c, h e n são respectivamente o número de átomos de carbono, hidrogênio e nitrogênio na fórmula molecular.

Os resultados obtidos pela petroleômica podem ser analisados por quimiometria através da análise de componente principal (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), determinando-se as principais variáveis e obtendo-se modelos para a determinação da origem do petróleo, estudos do grau de evolução térmica, etc. (Hur *et al.* 2010).

1.1.4. ESI-FT-ICR MS

O desenvolvimento do FT-MS no início da década de 1970 (Comisarow e Marshall, 1974; Marshall, 1985) tornou possível a obtenção de espectros com altíssimo poder de resolução ($m/\Delta m_{50\%} > 100.000$) em poucos segundos. A determinação da m/z no analisador de FT-MS, com elevada resolução é baseada no movimento ciclotrônico de íons (Marshall *et al.* 1998). Esse movimento é devido ao deslocamento de um íon presente em um campo magnético uniforme, B ; no qual estará sujeito a uma força dada pela equação:

$$F = qv \times B$$

onde q e v são a carga do íon e a velocidade, respectivamente. A carga do íon q é uma denotação física enquanto que z é uma denotação química. O campo magnético faz com que os íons tenham uma trajetória circular com raio (r); ou seja, um movimento ciclotrônico. A relação entre o raio e o campo magnético é inversa, indicando que campos magnéticos altos criam raios iônicos pequenos.

$$r = mv/qB$$

Respectivamente m e r correspondem à massa e o raio da trajetória do íon. Abaixo temos a equação ciclotrônica, na qual a frequência ciclotrônica, denotada por ωc , é descrita como:

$$\omega c = qB/m$$

Uma característica desta equação é que todos os íons com mesma m/z terão a mesma frequência ciclotrônica independente de suas velocidades.

A altíssima resolução é devida, portanto, a quantidade de ciclos que um determinado íon percorre ao ser excitado na presença de um campo magnético. Por exemplo, um íon de m/z 100 percorre a distância de ~30 km durante um período de observação de 1s em uma cela de ICR com um magneto de 3 Tesla (30.000 Gauss).

Quanto maior o campo magnético, menor será o raio ciclotrônico de um íon e maior será sua frequência ciclotrônica, portanto, maior será o poder de resolução (Rodgers *et al.* 2000).

O termo exatidão de massas caracteriza quão perto é a medida da massa experimental de sua massa teórica. Idealmente, se a medida de m/z pode ser realizada com altíssima exatidão chega-se a uma fórmula molecular empírica única, proveniente dos defeitos de massas específicos dos átomos. Entretanto, a identificação inequívoca da fórmula molecular de espectros adquiridos de amostras complexas, como o petróleo bruto, é uma tarefa complexa e trabalhosa,

uma vez que existe mais de vinte mil composições químicas elementares distintas possíveis para os compostos polares de petróleo (Marshall e Rodgers, 2004).

A **Figura 1.8** mostra um diagrama da cela de ICR (*trap* de Penning) composta pelas placas de trapeamento e duas placas de excitação e duas de detecção.

Os íons produzidos na fonte de ionização são conduzidos para a cela de ICR e aprisionados por potenciais de trapeamento, permanecendo no centro do analisador de MS. O campo magnético faz com que estes íons se movimentem de maneira não sincronizada.

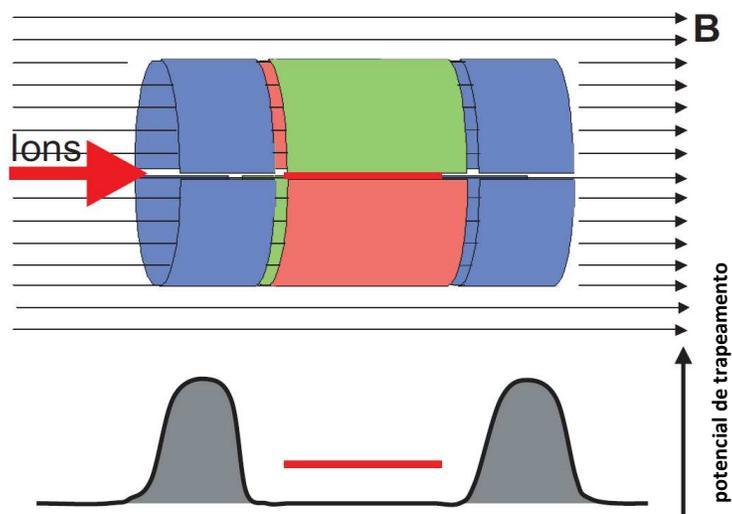


Figura 1.8. Cela de ICR (*trap* de Penning) contendo as placas de trapeamento (em azul), excitação (em verde) e detecção (em vermelho). B = campo magnético uniforme.

Aplica-se em seguida um potencial de excitação (campo elétrico r.f.) para sincronizar a movimentação dos íons em suas frequências ciclotrônicas. O potencial de excitação é desligado e o movimento dos íons geram uma corrente induzida nas placas de detecção (**Figura 1.9**).

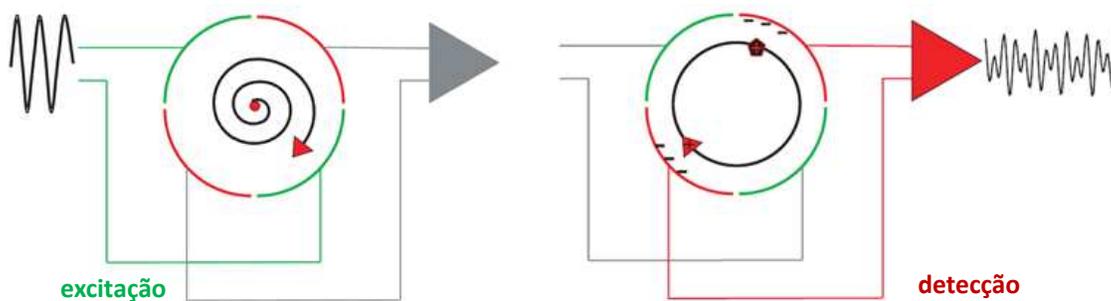


Figura 1.9. Etapas de excitação e detecção das frequências ciclotrônicas dos íons armazenados no *trap* de Penning.

A acumulação desta detecção da corrente induzida gera um transiente que contém todas as frequências ciclotrônicas e o seu decaimento de amplitude em função do tempo (**Figura 1.10**). Com a aplicação da Transformada de Fourier cria-se um espectro no domínio de frequências, sendo que quanto maior a frequência, menor a razão m/z . Este espectro de frequências é transformado para o respectivo espectro de m/z em função das suas intensidades de sinal.

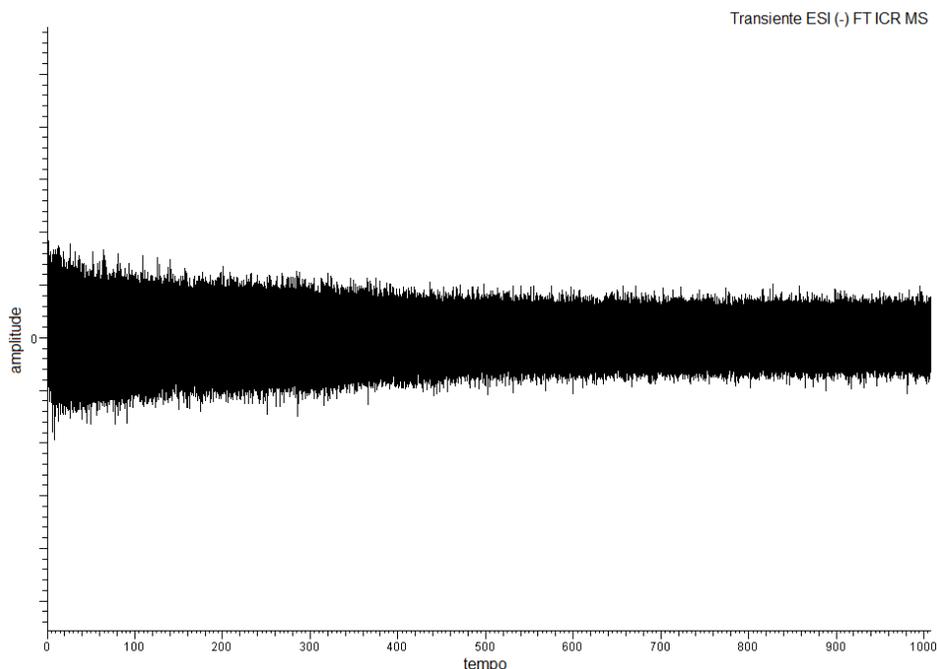


Figura 1.10. Transiente (decaimento da amplitude das frequências no domínio de tempo) obtido após a detecção das frequências ciclotrônicas dos íons armazenados na cela de ICR.

Um grande avanço na análise de petróleo se deu pela petroleômica por MS, devido ao desenvolvimento da ionização por *electrospray* (ESI) que permite a análise dos compostos polares no petróleo na forma de moléculas protonadas $[M+H]^+$ ou desprotonadas $[M-H]^-$. Esta fonte de ionização desenvolvida por John Fenn é branda o suficiente para não haver fragmentação dos íons na fonte. Deste modo, apenas uma espécie iônica é produzida para cada analito. Fenn também foi o primeiro cientista a propor o uso de ESI para analisar espécies polares de petróleo e combustíveis fósseis (Zhan e Fenn, 2000). O acoplamento de ESI com FT-ICR MS revolucionou a análise de petróleo sem a necessidade de preparo de amostra. A análise por ESI (+) e ESI (-) revelam distintas classes em cada modo de ionização, úteis nos estudos de especiação química, por ex., a classe N observada por ESI (+) é formada com compostos com nitrogênio básico (alquil-piridinas, alquil-quinolinas, etc.) que são protonados, enquanto a classe N observada por ESI (-) é formada por espécies com nitrogênio neutro (alquil-pirróis, alquil-indóis, alquil-carbazóis, etc.) que perdem o hidrogênio do heteroátomo.

Espectros de amostras de petróleo obtidos por FT-ICR MS são muito complexos, com milhares de sinais e uma ampla faixa dinâmica, podendo chegar a 50.000 íons detectados (Smith *et al.* 2008).

1.1.5. ESI-IM-MS

A espectrometria de mobilidade iônica (IMS) surgiu na década de 70 como uma técnica de separação de íons em fase gasosa, sendo denominada naquela época de cromatografia de plasma (Revercomb e Mason, 1975). Posteriormente ganhou importância e passou a ser vista como uma técnica para detecção seletiva de compostos orgânicos. Os pontos fortes da técnica eram velocidade, com separação de analitos em milissegundos, adequação para monitoramentos em tempo real e baixo custo. Encontrando grande aplicação nos campos militar e de segurança para análise de traços de vapores orgânicos, especialmente compostos como explosivos, drogas e agentes de guerra química (Collins e Lee, 2002). A IMS separa íons de acordo com seu tamanho e carga. Quando acoplada à espectrometria de massas (MS) torna-se uma poderosa ferramenta analítica para

a análise da estrutura molecular e separação de amostras complexas. Na IM-MS tem-se um *drift time* associado à medida de razão m/z do íon detectado.

IM-MS tem sido amplamente utilizada na análise de biomoléculas (Bohrer *et al.* 2008) e mais recentemente na análise de amostras de petróleo e suas frações (Becker *et al.* 2008, Fernandez-Lima *et al.* 2009, Ahmed *et al.* 2011).

O acoplamento da mobilidade iônica (IM) com a espectrometria de massas (MS) é complementar, sendo que a IM adiciona uma nova dimensão aos dados de m/z com as medidas de *drift time*. Na IM os íons atravessam a cela de mobilidade que contém um fluxo de gás contra-corrente que atrasa os íons de maior seção de choque. A velocidade para cada íon atravessar a cela preenchida com gás sob influência de um campo elétrico depende da mobilidade iônica. A mobilidade iônica depende de fatores como massa, carga, volume e interação entre o íon e o gás de mobilidade (seção de choque) (Johnson *et al.* 2007; Verbeck *et al.* 2002). A velocidade dos íons v é diretamente proporcional à mobilidade iônica K e ao campo elétrico E .

$$v = K \cdot E$$

A constante de mobilidade é calculada medindo-se o *drift time* que o íon leva para atravessar a cela de mobilidade.

$$K = L^2 / V t_d$$

onde L é o comprimento da cela de mobilidade, V é a diferença de potencial aplicada e t_d é o *drift time* (tempo de migração na cela de mobilidade).

O coeficiente de mobilidade do íon atravessando a cela de mobilidade com gás é afetado por diversos fatores como a densidade do *drift gas*, número de moléculas N , a massa do íon e e do *drift gas* μ , a temperatura absoluta do *drift gas* T , a seção de choque do íon Ω e a carga do íon q .

$$K = (3/16) \cdot (q/N) \cdot (1/\mu)^{1/2} \cdot (2\pi/kT)^{1/2} \cdot (1/\Omega)$$

K é inversamente proporcional a razão m/z e a seção de choque do íon.

$$K^1 \propto (m/q) \cdot \Omega$$

Desta maneira é possível separar íons de mesma m/z mas de tamanho e geometria espaciais distintos. Os íons com menor Ω (maior mobilidade) possuem maior velocidade, chegando mais rapidamente ao analisador.

O uso de gradiente de voltagem na cela de mobilidade ao invés do potencial fixo é um dos avanços mais recentes na mobilidade iônica (Thalassinos *et al.* 2004), sendo chamada de *travelling wave ion mobility* (T-wave IM). Nesta técnica a sensibilidade do espectrômetro de massas não é afetada pelo ciclo de trabalho como ocorre com as técnicas de IM-MS convencionais. Na TWIM é aplicada uma sequência de ondas de potencial simétrico e com propagação contínua através da cela de mobilidade.

A cela de mobilidade é composta por uma série de eletrodos onde é aplicada uma radiofrequência (RF) de fase oposta ao aplicado no eletrodo adjacente (**Figura 1.11**).

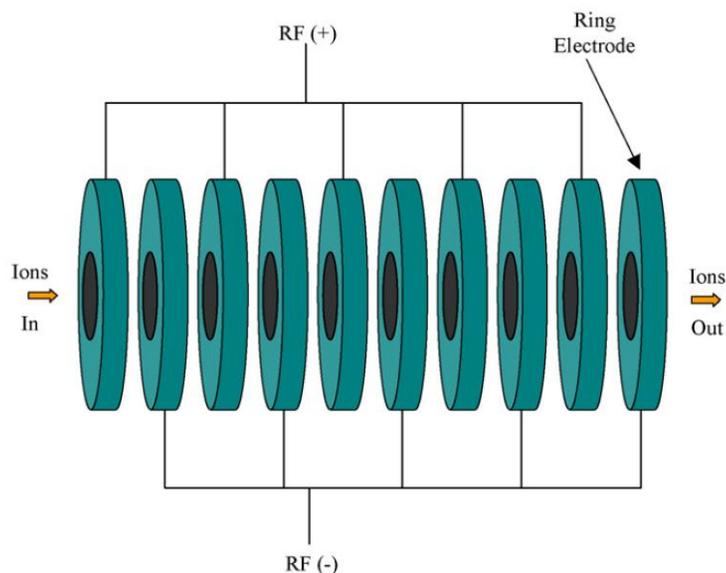


Figura 1.11. Sequência de eletrodos como guias de íons (Segundo Pringle *et al.* 2007).

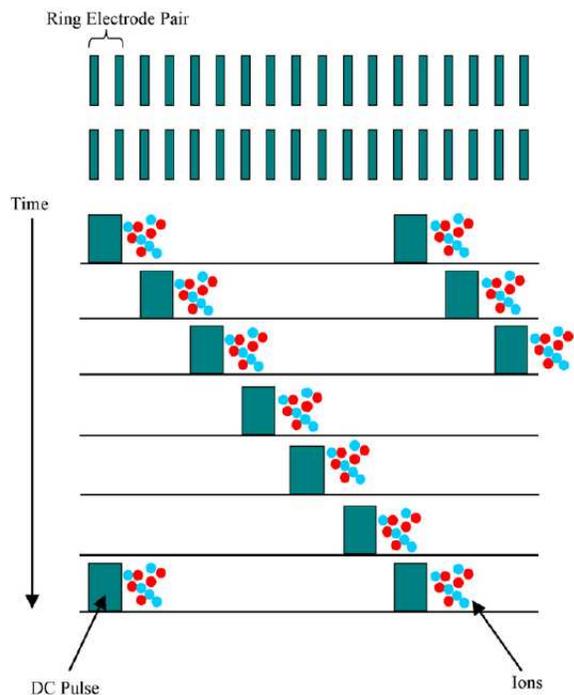


Figura 1.12. Operação da cela de mobilidade com a aplicação de um pulso DC (Segundo Pringle *et al.* 2007).

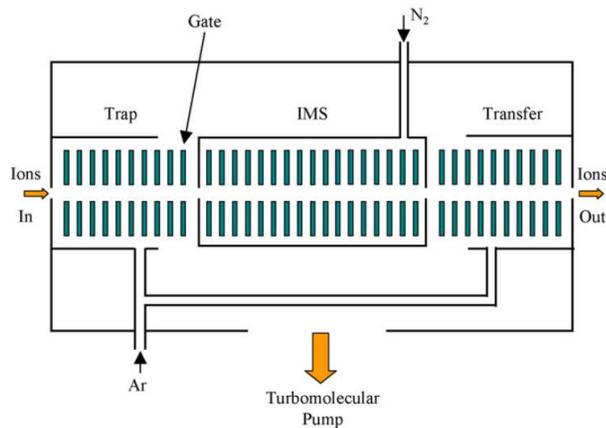


Figura 1.13. Diagrama esquemático da cela de mobilidade do Synapt HDMS, compreendendo um trap para acumular íons, a cela de mobilidade (IMS) e o transfer (Segundo Pringle *et al.* 2007).

Para empurrar os íons através da cela de mobilidade aplica-se um potencial DC adicional à r.f. em pares de eletrodos. Isto gera um campo elétrico em forma

de onda (travelling wave) que carrega os íons (**Figura 1.12**). A **Figura 1.13** mostra o diagrama esquemático do TWIM-MS Synapt (Waters Corp.)

1.2. OBJETIVOS GERAIS

O Laboratório ThoMson de Espectrometria de Massas adquiriu recentemente um espectrômetro de massas do tipo FT-ICR MS mediante convênio com a ANP e CENPES/Petrobras. Esta parceria gerou, até o presente momento, três teses de doutorado em nosso laboratório, envolvendo a criação de um software específico para processamento de espectros de massas de petróleo, análise de fracionamento e remoção de compostos polares de cortes de diesel e estudo de evolução térmica de distintas amostras de petróleo. O assunto desta tese faz parte deste projeto ANP/CENPES-Petrobras e seus objetivos e resultados são frutos desta parceria.

Apesar do crescente aumento da literatura sobre petroleômica, tem-se uma carência de referências sobre a otimização das condições de análise de amostras de petróleo por FT-ICR MS. Neste trabalho, buscou-se avaliar de maneira sistemática os efeitos da resolução e do número de *scans* acumulados na qualidade do espectro e da informação obtida.

Além de petróleo, o Brasil possui outras reservas substanciais de combustíveis fósseis. Segundo o Departamento Nacional de Produção Mineral (dados de 2000), as reservas de carvão mineral e folhelho correspondem respectivamente a 68% e 13% do total das reservas de combustíveis fósseis do país. A composição dos polares presentes nestas matrizes é pouco conhecida. Sendo o segundo objetivo desta tese estudar a composição de classes de heteroátomos presentes no carvão mineral e em folhelho.

É crescente o interesse pelos constituintes ácidos presentes no petróleo. Além do uso desta classe de compostos polares na identificação da origem, grau de evolução térmica, processos de migração e biodegradação. O conhecimento sobre a composição da fração ácida é importante pela associação desta classe de

compostos com a corrosão, formação de depósitos e emulsões. Buscamos analisar os constituintes ácidos do petróleo diretamente por FT-ICR MS, sem fracionamentos e purificações das amostras e comparando estes resultados com os resultados prévios das análises por FAB MS realizadas no CENPES-Petrobras.

Recentemente foi lançado um novo analisador TOF de altíssima resolução (poder de resolução de 100.000) – UHRT MS. Esta tese também tem como objetivo explorar as possibilidades do UHRT para os estudos de petroleômica comparando o desempenho deste novo TOF comercial com um espectrômetro de massas FT-ICR de 7,2 T híbrido com *ion trap* linear.

Pouco se conhece a respeito da estrutura molecular nos estudos de petroleômica por MS. Apesar da grande utilidade da espectrometria de massas de altíssimo poder de resolução e exatidão de m/z , os espectrômetros de massas não são capazes de fornecer informações estruturais sobre a forma dos íons das diferentes classes de heteroátomos. A mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas (IM-MS) pode fornecer algum conhecimento sobre a forma destes íons (conformação, isomeria, etc) pela relação entre o *drift time* e a seção de choque dos analitos. O objetivo final desta tese é estudar os padrões de mobilidade iônica de ácidos carboxílicos presentes no petróleo, bem como cortes de destilação e amostras brutas de petróleo e correlacionar estes padrões de drift time com a estrutura destes íons, através das diferenças de seção de choque.

1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahmed, A.; Cho, Y.J.; No, M.; Koh, J.; Tomczyk, N.; Giles, K.; Yoo, J.S.; Kim, S. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 77–83.

Ai-Jun, G.; Zhi-Hui, R.; Ling-Yan, T.; Zong-Xian, W.; Ke-Qin, L. *J.Fuel Chem.Technol.* **2007**, *35*, 169-175.

Altgelt, K.H.; Boduszynski, M.M. *Composition and Analysis of Heavy Petroleum Fractions.* **1994**. 1st ed., Marcel Dekker, Inc. New York.

Amorim, F.A.C.; Welz, B.; Costa, A.C.S.; Lepri, F.G.; Vale, M.G.R.; Ferreira, S.L.C. *Talanta* **2007**, *72*, 349-359.

- Becker, C.; Qian, K.; Russell, D.H. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 8592–8597.
- Bohrer, B.C.; Merenbloom, S.I.; Koeniger, S.L.; Hilderbrand, A.E.; Clemmer, D.E. *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2008**, *1*, 10.1-10.35.
- Borgund, A.E.; Erstad, K.; Barth, T. *J.Chromatogr.A.* **2007**, *1149*, 189-196.
- Bouhadda, Y.; Bormann, D.; Sheu, E.; Bendedouch, D.; Krallafa, A.; Daaou, M. *Fuel* **2007**, *86*, 1855-1864.
- Bugden, J.B.C.; Yeung, C.W.; Kepkay, P.E.; Lee, K. *Marine Pollut.Bull.* **2008**, *56*, 677-685.
- Coelho, R.R.; Hovell, I.; Monte, M.B.M.; Middea, A.; Souza, A.L. *Fuel Proces.Technol.* **2006**, 325-333.
- Collins, D.C.; Lee, M.L. *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *372*, 66-73.
- Comisarow, M.B.; Marshall, A.G. *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *25*, 282-283.
- Curriale, J.A. *Org.Geochem.* **2008**, *39*, 1150-1161.
- Dutriez, T.; Courtiade, M.; Thiébaud, D.; Dulot, H.; Hennion, M.C. *Fuel* **2010**, *89*, 2338-2345.
- Fernandez-Lima, F.A.; Becker, C.; McKenna, A.M.; Rodgers, R.P.; Marshall, A.G.; Russel, D.H. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 9941–9947.
- Hur, M.; Yeo, I.; Park, E.; Kim, Y.H.; Yoo, J.; Kim, E.; No, M.; Koh, J.; Kim, S. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 211-218.
- Johnson, P. V.; Beegle, L. W.; Kim, H. I.; Eiceman, G. A.; Kanik, I. *Int. J. Mass Spectrom.* **2007**, *262*, 1-15.
- Juyal, P.; McKenna, A.M.; Yen, A. Rodgers, R.P.; Reddy, C.M.; Nelson, R.K.; Andrews, A.B.; Atolia, E.; Allenson, S.J.; Mullins, O.C.; Marshall, A.G. *Energy Fuels* **2011**, *25*, 172-182
- Koch, B.P.; Witt, M.; Engbrodt, R.; Dittmar, T.; Kattner, G. *Geochim. et Cosmochim. Acta* **2005**, *69*, 3299-3308.
- Kujawinski, E.B.; Longnecker K.; Blough, N.V.; Del Vecchio, R.; Finlay, L.; Kitner, J.B.; Giovannoni, S.J. *Geochim. et Cosmochim. Acta* **2009**, *73*, 4384-4399.
- Marshall, A.G. *Acc. Chem. Res.* **1985**, *18*, 316-322.
- Marshall, A. G.; Hendrickson, C. L.; Jackson, G. S. *Mass Spec. Rev.* **1998**, *17*, 1-35.

- Marshall, A.G.; Rodgers, R.P. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 53-59.
- Marshall, A.G.; Rodgers, R.P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **2008**, *105*, 18090-18095.
- Merdrignac, I.; Espinat, D. *Oil & Gas Sci.Technol.-Rev.IFP.* **2007**, *1*, 7-32.
- Molina V, D.; Uribe, U.N.; Murgich, J. *Fuel* **2010**, *89*, 185-192.
- Moustafa, N.E.; Andersson, J.T. *Fuel Process. Technol.* **2011**, *92*, 547-555.
- Pringle, S.D.; Giles, K.; Wildgoose, J.L.; Williams, J.P.; Slade, S.E.; Thalassinos, K.; Bateman, R.H.; Bowers, M.T.; Scrivens, J.H. *Int. J. Mass Spectrometry*, **2007**, *261*, 1-12.
- Ramos, P.F.O.; Toledo, I.B.; Nogueira, C.M.; Novotny, E.H.; Vieira, A.J.M.; Azeredo, R.B.V. *Chemometr. Intell. Lab.* **2009**, *99*, 121-126.
- Revercomb, H.E.; Mason, E.A. *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 970-983.
- Restlé, A. O Petróleo. Tradução e adaptação de Mello, R.M.; Hessel, M.H.; Soldan, A.L. **1984**, Rio de Janeiro: PETROBRAS/CENPES.
- Rodgers, R. P.; Blumer, E. N.; Hendrickson, C. L.; Marsahall, A. G. *J. Am. Soc. Mass Spectrometry.* **2000**, *11*, 835-840.
- Rodgers, R.P.; Schaub, T.M.; Marshall, A.G. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 20A-27A.
- Rodgers, R.P.; McKenna, A.M. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4665-4687.
- Saravanabhavan, G.; Helferty, A.; Hodson, P.V.; Brown, R.S. *J.Chromatogr. A.* **2007**, *1156*, 124-133.
- Simanzhenkov, V.; Idem, R. *Crude Oil Chemistry.* **2003**. 1st ed., Marcel Dekker, Inc. New York.
- Smith, D. F.; Rahimi, P.; Teclemariam, A.; Rodgers, R. P.; Marshall, A. G. *Energy Fuels.* **2008**, *22*, 3118-3125.
- Speight, J.G. *Handbook of Petroleum Analysis.* **2001**. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Speight, J.G. *The Chemistry and Technology of Petroleum.* **2007**. 4th ed., CRC Press. Boca Raton.
- Thalassinos, K.; Slade, S. E.; Jennings, K. R.; Secrívens, J. H.; Giles, K.; Wildgoose, J.; Hoyes, J.; Bateman, R. H.; Bowers, M. T. *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *236*, 55-63.

Tissot, B.; Welte, D.H. Petroleum Formation and Occurrence. **1984**. 2nd ed., Springer-Verlag. New York.

Verbeck, G. F.; Ruotolo, B. T.; Sawyer, H. A.; Gillig, K. J.; Russell, D. H. *J. Biomol. Tech.* **2002**, *13*, 56-61.

Zhan, D. L.; Fenn, J. B. *Int. J. Mass Spectrometry* **2000**, *194*, 197-208.

CAPÍTULO 2

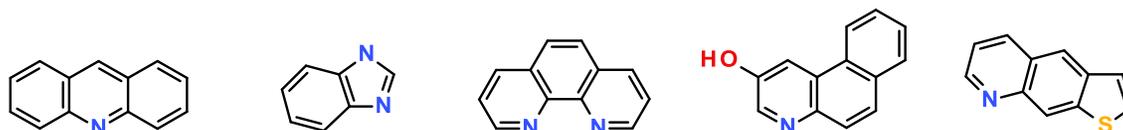
Avaliação das Condições Ideais de Análise de Amostras de Petróleo por Espectrometria de Massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons com Transformada de Fourier e Comparação dos Perfís de Compostos Polares Presentes em Amostras de Petróleo, Folhelho e Carvão Mineral

2.1. INTRODUÇÃO

O petróleo é um óleo mineral considerado como a mistura de compostos orgânicos mais complexa presente na natureza (Tissot e Welte, 1984). É constituído de milhares de compostos e sua caracterização é fundamental para determinar a origem, migração, evolução térmica, biodegradação e processos de refino aos quais deve ser submetido. Uma abordagem moderna para a caracterização total dos compostos polares do petróleo é através da petroleômica, utilizando espectrômetros de ressonância ciclotrônica de íons com análise por transformada de Fourier (FT-ICR MS). A rapidez de análise aliada a pouca necessidade de preparo de amostras tornam esta técnica atrativa na caracterização de amostras de alta complexidade. Entre 5 a 15% da composição do petróleo são compostos polares de diferentes classes (O, O₂, N, NO, NO₂, S, etc.), sendo estes compostos os alvos da petroleômica por FT-ICR MS com ionização por *electrospray* (ESI) (**Figura 2.1**). A altíssima resolução e exatidão da FT-ICR MS faz com que seja a técnica ideal para a análise de amostras de petróleo, de matéria orgânica dissolvida em sedimentos e outras amostras complexas (Marshall e Rodgers, 2008; Koch *et al.* 2005; Kujawinski *et al.* 2009). FT-ICR MS constitui-se em uma ferramenta poderosa na caracterização de amostras de petróleo de distintas origens e composição pela sua altíssima resolução e exatidão (Marshall e Rodgers, 2008). A determinação dos compostos polares é de extrema importância, já que estas espécies contribuem para a deposição de sólidos, floculação e desativação de catalisadores, refletindo em

problemas de armazenamento e corrosão na exploração e nas refinarias. As espécies contendo oxigênio são encontradas na forma de fenóis e ácidos carboxílicos. Estes compostos oxigenados são conhecidos por serem os principais contribuintes para a corrosão dos equipamentos durante o processo de extração e refinamento de produtos petrolíferos.

ESI (+) Classes N, N₂, NO, NS



ESI (-) Classes N, NO, NO₂, O, O₂, O₂S, O₃, O₄, S

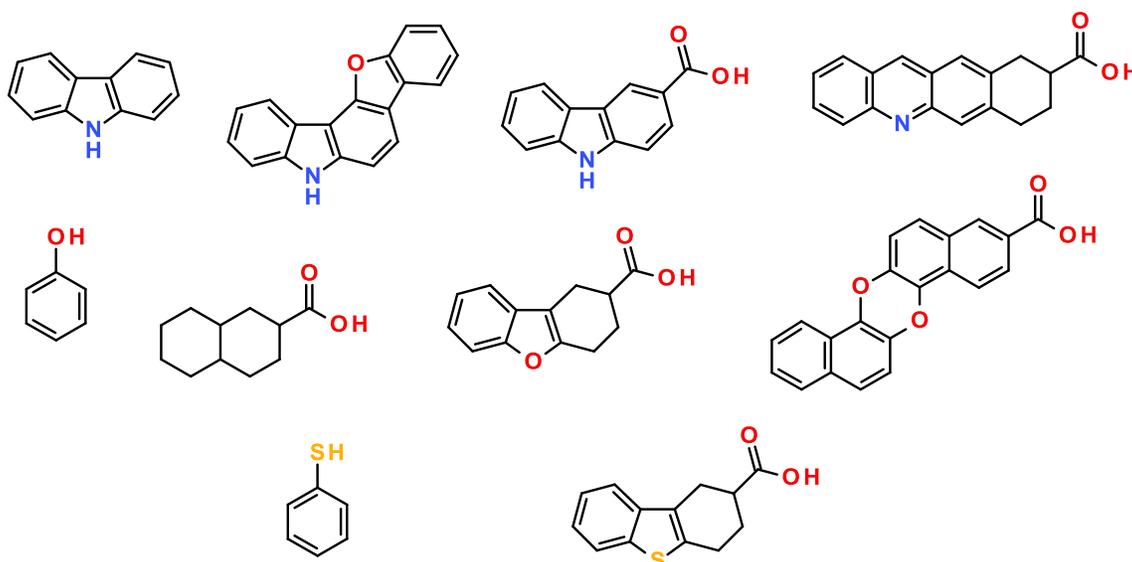


Figura 2.1. Exemplos das principais classes de heteroátomos identificadas em petróleo por ESI.

Os compostos de nitrogênio básicos são principalmente piridinas, quinolinas e derivados e ocorrem durante quase todos os intervalos de ponto de ebulição, com tendência a existirem em maior abundância nas frações de alto ponto de ebulição e nos resíduos.

Os compostos de nitrogênio neutros, são geralmente pirróis, indóis e carbazóis, estão presentes em faixas com maior ponto de ebulição e nas frações dos resíduos. Os compostos nitrogenados são geralmente encontrados em pequenas concentrações, de no máximo 0,9% em massa do petróleo bruto (Altgelt, 1994). A análise dos compostos polares é de extrema importância para o gerenciamento de processos de refino e para determinar o valor econômico do petróleo (Marshall e Rodgers, 2004).

A petroleômica tem sido utilizada com muito sucesso na caracterização do petróleo bruto e suas frações, incluindo os asfaltenos e os derivados de refino. Séries de compostos polares podem ser analisadas em poucos minutos diretamente de uma amostra bruta, determinando-se assim a presença e quantidade relativa de classes, suas séries homólogas, número de carbonos e DBE por meio da apresentação dos resultados em diagramas específicos. DBE (equivalentes de duplas ligações) é igual ao número de anéis e duplas ligações na estrutura molecular e é calculado como:

$$\text{DBE} = c - h/2 + n/2 + 1$$

onde, **c**, **h** e **n** são respectivamente o número de átomos de carbono, hidrogênio e nitrogênio na fórmula molecular.

Apesar do crescente aumento da literatura sobre petroleômica, tem-se uma carência de referências sobre a otimização das condições de análise de amostras de petróleo por FT-ICR MS. Neste trabalho, buscamos avaliar de maneira sistemática os efeitos da resolução e do número de *scans* acumulados na qualidade do espectro e da informação obtida.

Além de petróleo, o Brasil possui outras reservas substanciais de combustíveis fósseis. Segundo o Departamento Nacional de Produção Mineral (dados de 2000) as reservas de carvão mineral e folhelho (erroneamente denominado de xisto betuminoso) correspondem respectivamente a 68% e 13% do total das reservas de combustíveis fósseis do país (**Figura 2.2**).

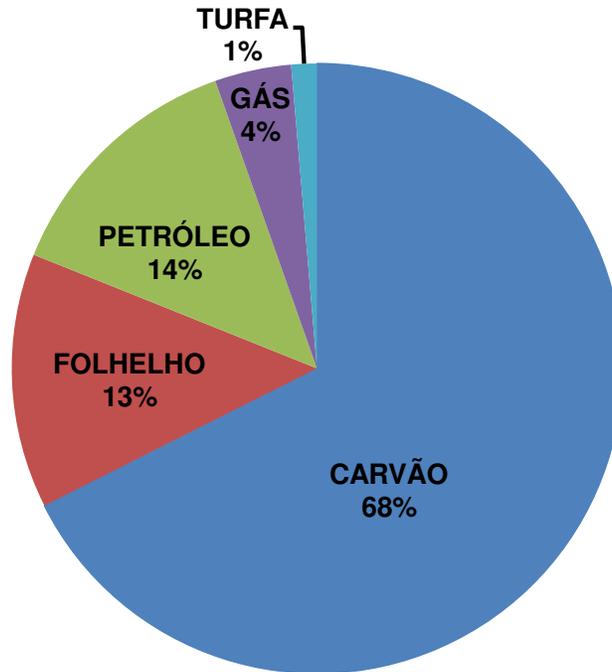


Figura 2.2. Reservas de combustíveis fósseis no Brasil (%) (DNPM, 2000).

A maior parte do folhelho existente no país está incluída na Formação Irati, Permiano da Bacia Paraná, sendo um dos mais importantes geradoras da idade do Permiano no Brasil. Ocorre nos estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. A Petrobras (Petrosix) explora comercialmente a jazida de São Mateus do Sul onde o folhelho é encontrado em duas camadas (**Figura 2.3**). A camada superior, com 6,4 metros de espessura, apresenta um teor de óleo de 6,4% e a inferior, de 3,2 metros de espessura, apresenta 9,1% de teor de óleo (Milani e Araújo, 2003). Na usina da Petrosix de Irati são processadas 7.800 toneladas de rocha onde o querogênio do folhelho é submetido a pirólise a 500 °C gerando 3.870 barris de óleo, 120 toneladas de gás combustível, 45 toneladas de gás liquefeito e 75 toneladas de enxofre. Cada quilômetro quadrado de área explorada fornece 7,3 milhões de barris de petróleo (Milani e Araújo, 2003).

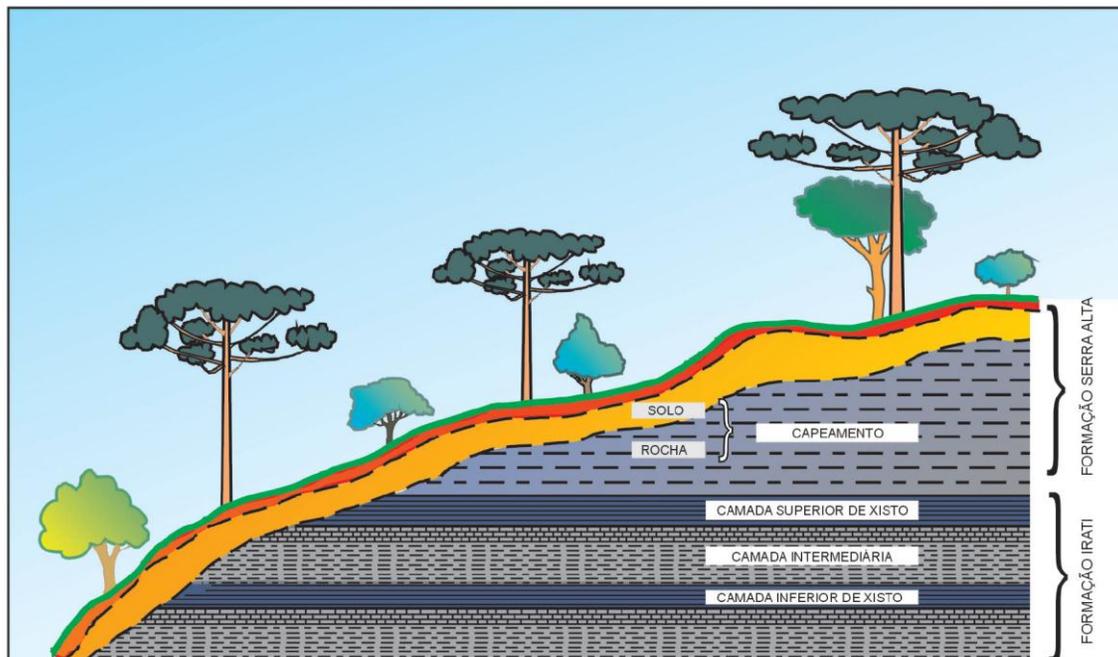


Figura 2.3. Detalhe estratigráfico do Grupo Passa Dois em São Mateus do Sul, PR. Destaque para as camadas de folhelho da Formação Irati (segundo Milani e Araújo, 2003).

As principais reservas de carvão mineral do país situam-se ao sul do paralelo 24°S na borda da Bacia Sedimentar do Paraná (**Figura 2.4**). Somam 32 bilhões de toneladas e sua utilidade principal é a produção de calor e vapor industrial para a área de energia elétrica (Gomes *et al.* 2003). O carvão mineral é o combustível não renovável de maior abundância no globo terrestre. As reservas de carvão no Brasil somam 32 bilhões de toneladas sendo que 89% está do Rio Grande do Sul. A profundidade vai desde 1200 m ao afloramento e foram formadas no período Carbonífero e Permiano, sob ação da ingressão de águas marinhas em turfeiras, levando a altos teores de enxofre. A produção brasileira é de apenas 10 milhões de toneladas/ano de carvão bruto que é utilizada pelas usinas termoelétricas. O carvão nacional contribui com apenas 1% da matriz energética em um país cuja indústria siderúrgica importa mais de 13 milhões de toneladas/ano a um custo de pelo menos US\$ 650 milhões/ano que contribui substancialmente para o desequilíbrio da balança comercial.

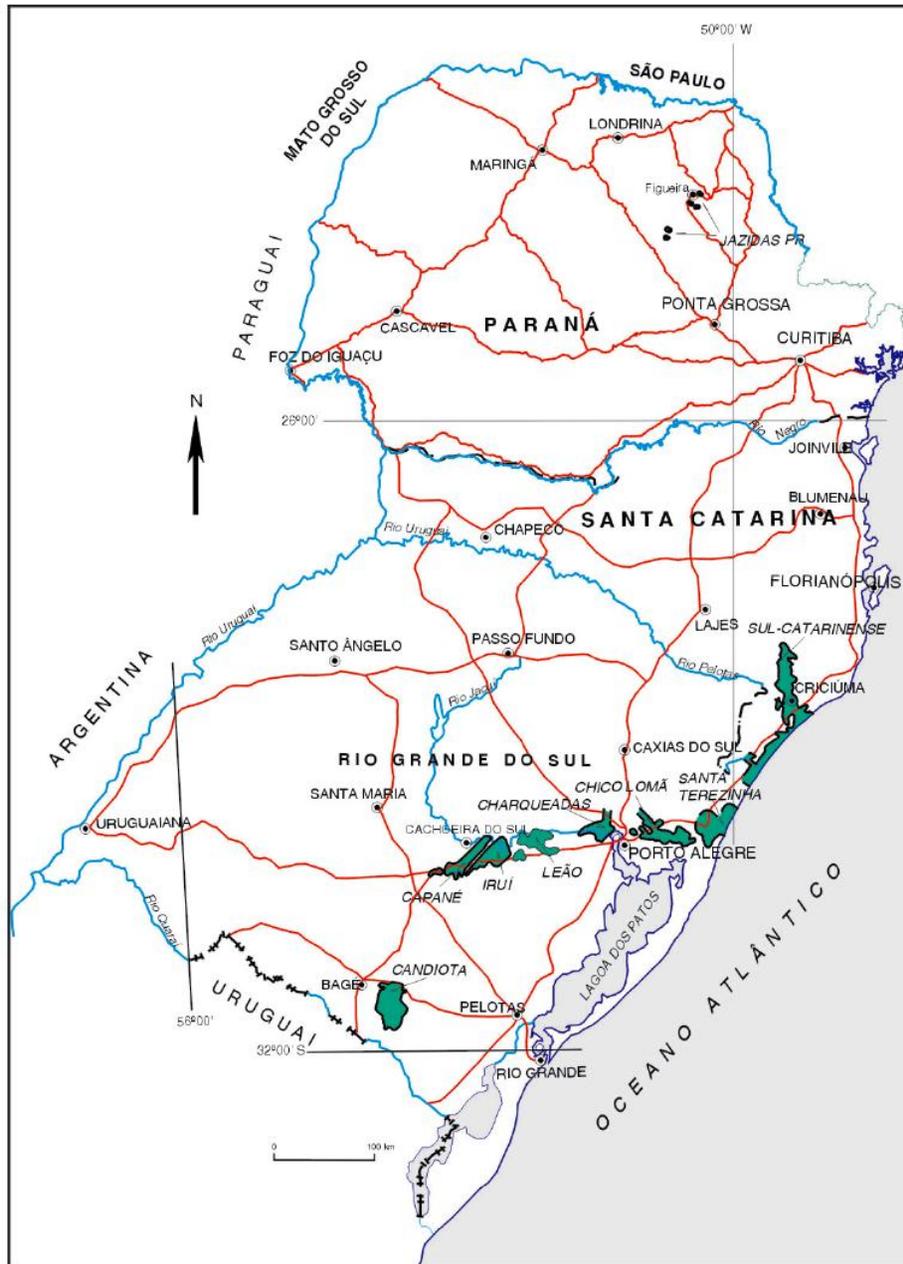


Figura 2.4. Localização das principais jazidas de carvão mineral da Bacia do Paraná (segundo Gomes *et al.* 2003).

Carvão mineral é uma rocha sedimentar com alto teor de carbono (55-95%) e diretamente combustível na presença do oxigênio do ar. Foi formado a partir do soterramento continuado de vegetais superiores cuja deposição ao longo do tempo geológico sofreu diagênese e compactação. O carvão húmico foi formado

por vegetais superiores terrestres, enquanto o sapropélico foi formado por algas marinhas.

A principal distinção entre petróleo, folhelho betuminoso e carvão mineral deve-se à sua origem. O petróleo foi basicamente formado por organismos planctônicos cuja matéria orgânica com alto teor de lipídeos e proteínas sofreu "betuminização" enquanto os carvões húmicos foram formados por vegetais terrestres superiores ricos em carboidratos. Petróleo e folhelho betuminoso foram derivados de rochas sapropélicas. O petróleo é essencialmente uma mistura de hidrocarbonetos líquidos, sólidos (asfaltos) ou gasosos que impregnam rochas armazenadoras porosas. O folhelho é uma rocha sólida com teor de carbono inferior ao do carvão mineral e rico em argila (Gomes *et al.* 2003).

Poucos trabalhos analisaram os componentes polares do carvão mineral brasileiro. Caramão e Nascimento-Filho (2004) analisaram o alcatrão do carvão mineral e identificaram mais de 25 alquil fenóis, muitos deles de interesse industrial como matérias primas de corantes e fármacos. Sendo a composição total de polares no carvão mineral e folhelho brasileiro ainda desconhecida.

2.2. OBJETIVOS

Os principais objetivos deste capítulo inicial da tese é avaliar a influência da resolução e do número de *scans* na análise petroleômica por ESI FT-ICR MS, determinando as condições ideais de análise, e comparar a composição de compostos polares de diferentes matrizes brasileiras de combustíveis fósseis (petróleo, folhelho e carvão mineral) por ESI-FT-ICR MS.

2.3. PARTE EXPERIMENTAL

Preparo das amostras. As amostras de petróleo fornecidas pelo CENPES – PETROBRAS foram pesadas (3-6 mg) e diluídas em tolueno-metanol 1:1 (v/v) para a concentração de $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Para as análises em ESI (+) foi adicionado 0,1% de ácido fórmico e para as análises em ESI (-) foi adicionado 0,1% de

hidróxido de amônio. A solução foi analisada por infusão direta na fonte de ESI, operada nos modos positivo e negativo. Foram utilizados solventes grau HPLC, adquiridos da Sigma-Aldrich e utilizados sem prévia purificação. A amostra de folhelho foi fornecida pelo CENPES-PETROBRAS. Após pulverização foi extraída durante 48 horas com tolueno-metanol 1:1 (v/v) à temperatura ambiente e posteriormente diluída para concentração equivalente à amostra de petróleo. A amostra de carvão mineral foi extraída da mesma maneira. A amostra de carvão mineral foi fornecida pela COPELMI Mineração Ltda. e consiste no carvão pulverizado CE5200 (mistura das camadas S, M1 e M2).

Análise por FT-ICR MS (Figura 2.5). As amostras em solução foram infundidas diretamente na fonte de ESI do espectrômetro de massas LTQ FT Ultra 7,2 T (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha) na vazão de $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A fonte de ESI foi operada nos seguintes parâmetros: potencial do spray 3,6 kV; potencial do capilar de transferência 40 V; potencial do tube lens 100 V; temperatura do capilar 280 °C. Os espectros foram adquiridos na faixa de m/z 200 – 1000 com acúmulo de 100 μscans com poder de resolução de $400.000@400$ ($m/\Delta m$ em m/z 400) e processados através do programa Xcalibur 2.0 SR2 (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha). O FT-ICR MS foi previamente calibrado na faixa de m/z de 150-2000 com a solução de calibrante (calmix Thermo Scientific) por ESI (+) e ESI (-), sendo o erro de m/z inferior a 1 ppm. Para avaliar o efeito do poder de resolução nos estudos de petroleômica processamos diferentes aquisições de duas amostras de petróleo em 8 resoluções distintas medidas em m/z 400 (12.500, 25.000, 50.000, 100.000, 200.000, 400.000, 750.000 e 1.000.000) além de variar o acúmulo de *scans* (1, 10, 40, 100 e 200) para medir o seu efeito na melhor resolução encontrada.

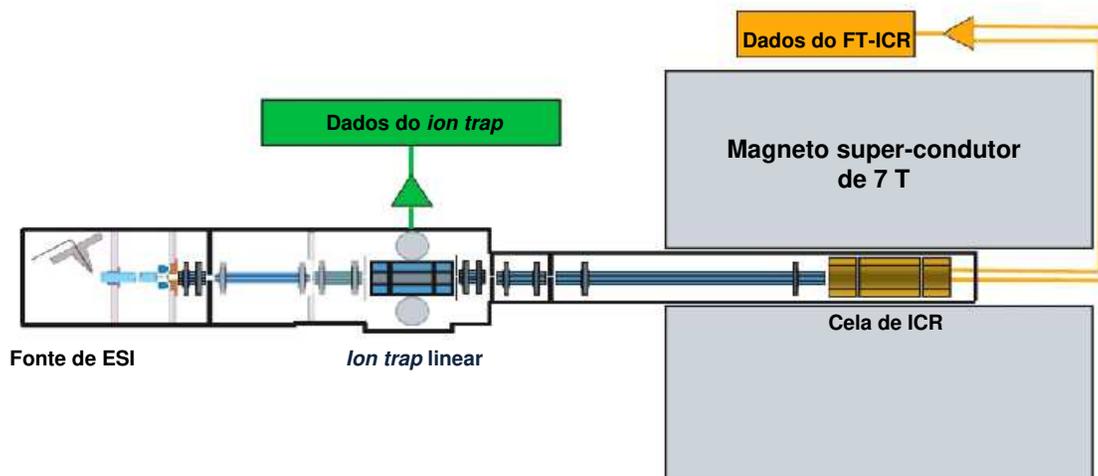


Figura 2.5. Diagrama esquemático do FT-ICR MS Thermo Scientific LTQ FT Ultra 7 T.

Processamento dos dados. Os espectros foram exportados como arquivos TXT contendo as razões m/z e respectivas intensidades absolutas e processados no programa PetroMS 3.0 *Beta* desenvolvido no Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas (Corilo *et al.* 2010). Este programa de análise petroleômica permite a recalibração do espectro de massas baseada na distribuição de séries homólogas conhecidas para petróleo e permite a atribuição de fórmula molecular, representação da abundância relativa das classes de heteroátomos, construção de gráficos como Diagramas de Kendrick e de van Krevelen, e Distribuição de DBE versus número de carbono.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Influência do poder de resolução e do número de *scans* na análise petroleômica por ESI-FT-ICR MS

A **Figura 2.6** mostra a relação entre os desvios de medida de m/z (experimentais vs teórico) na faixa de 100 – 1000 m/z .

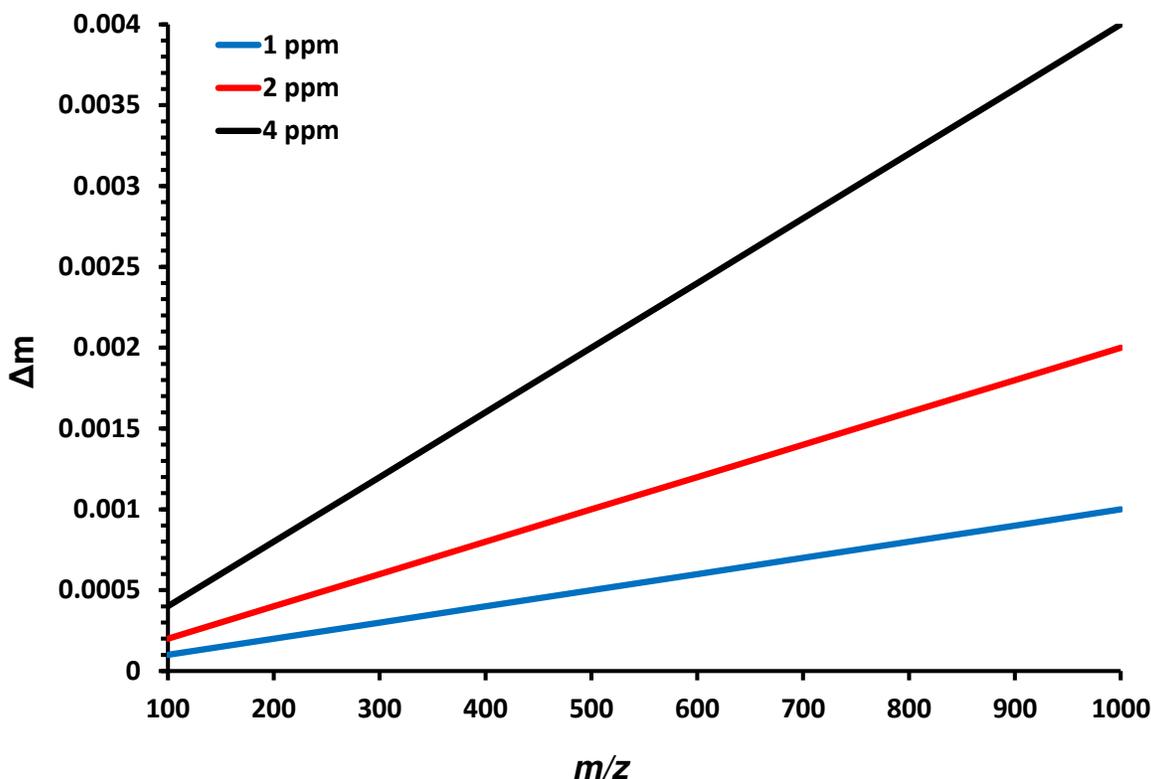


Figura 2.6. Relação entre Δm , faixa de m/z e exatidão de massa (ppm).

Quanto menores estes desvios (maior exatidão) menor será o número de fórmulas elementares possíveis para a medida experimental de m/z . A **Figura 2.7.** mostra a relação entre a variação da exatidão de massa e o número de fórmulas elementares prováveis, considerando os elementos C, H, N, O, para medidas em m/z 300, 600 e 1000, segundo Quenzer *et al.* (2002). Pode-se perceber pelo gráfico que com uma exatidão de 4 ppm medida para m/z 300 temos menos de 5 fórmulas elementares prováveis, enquanto que para m/z 600 este valor sobe para aproximadamente 20 fórmulas possíveis. Um erro de 4 ppm para m/z 1000 significa 120 fórmulas possíveis para esta medida de massa. Um desvio de 1 ppm para m/z 1000 ainda permite a possibilidade de 30 fórmulas elementares. Isto mostra a necessidade de programas de análise para os estudos petrolômicos por MS, uma vez que para uma faixa ampla de m/z mesmo com a altíssima exatidão do FT-ICR MS temos várias possibilidades de fórmulas elementares. A recalibração das aquisições e análises baseadas na distribuição de séries homólogas aumenta a confiabilidade das análises.

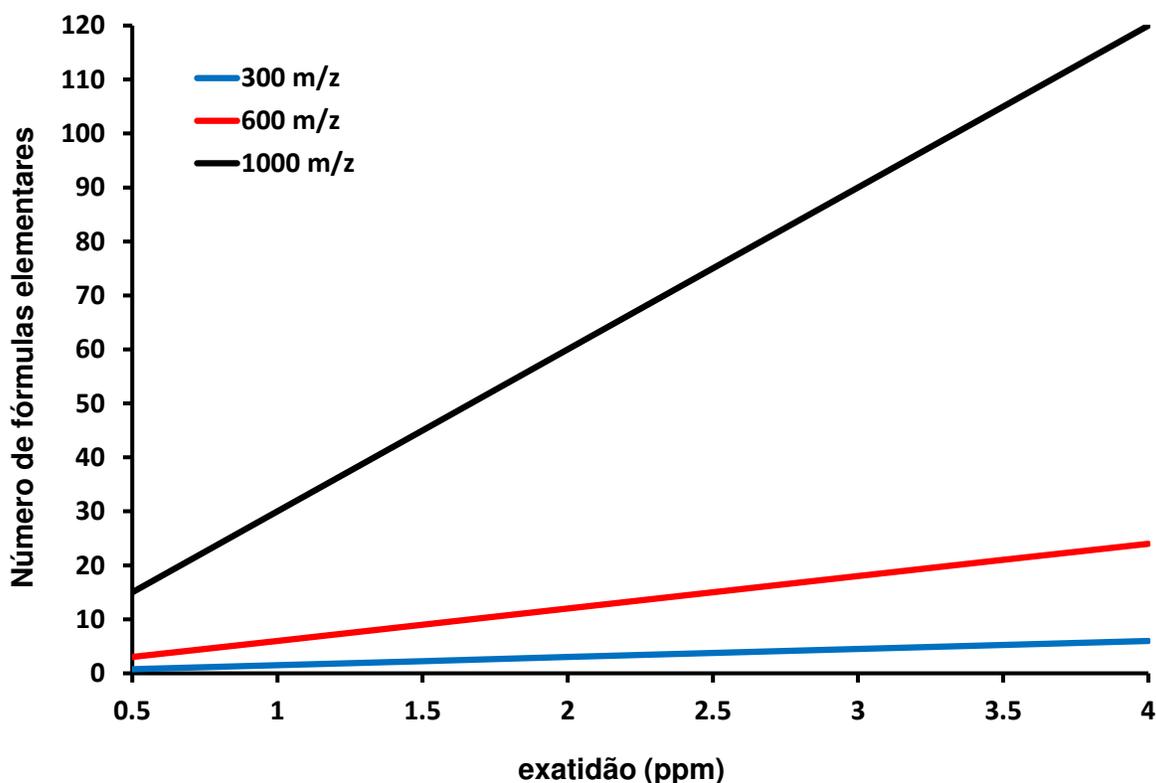


Figura 2.7. Efeito da exatidão de massa no número de fórmulas elementares prováveis (para C, H, N, O) em relação à massa molecular do analito. Segundo Quenzer *et al.* (2002).

Para os estudos de otimização do número de *scans* acumulados e do poder de resolução nas análises por ESI-FT-ICR MS comparamos duas amostras de petróleo analisadas desde a menor resolução do equipamento (12.500@400) até 1.000.000@400 por ESI (+) e (-).

A **Figura 2.8** mostra os resultados obtidos para o Petróleo 1 analisado em diferentes condições experimentais. Podemos observar que em 400.000@400 obtivemos o espectro de massas com o maior número de sinais (10.606) e aproximadamente 1400 sinais identificados, atribuindo 3 classes de compostos polares (N, N₂ e NO₂). Esta amostra quando analisada acima de 400.000@400 apresenta uma queda de intensidade de sinal, consequentemente os resultados obtidos em resoluções superiores não foram satisfatórios.

A **Figura 2.9.** mostra os resultados para o Petróleo 2 analisado por ESI (+) FT-ICR MS. Apesar do número total de sinais observados no espectro de massas com 750.000@400 ser superior ao número de sinais em 400.000@400 tivemos um maior número de sinais identificados com 400.000@400. 1746 sinais foram identificados, atribuídos em 6 classes de compostos polares (N, N₂, NO, NS, NO₂, NOS). Estes resultados mostram que o poder de resolução ideal para trabalhar com as amostras de petróleo por ESI (+) FT-ICR MS é 400.000@400. Com resoluções inferiores existe perda de informação, com espectros com menos sinais e um número de sinais identificados menores, resultado em um menor número de classes atribuídas e distribuição mais restrita de íons dentro de cada classe (distribuição de número de carbono vs DBE).

A **Figura 2.10** resume os resultados obtidos para a análise do Petróleo 1 por ESI (-) FT-ICR MS. Com 400.000@400 o espectro de massas apresentou ~22.000 sinais de *m/z* com mais de 3000 fórmulas elementares identificadas e distribuídas em oito classes de heteroátomos. A **Figura 2.11**, de maneira similar, mostra mais de 20.000 sinais de *m/z* no espectro de massas com 400.000@400. Sendo identificados mais de 2000 compostos polares, distribuídos em seis classes.

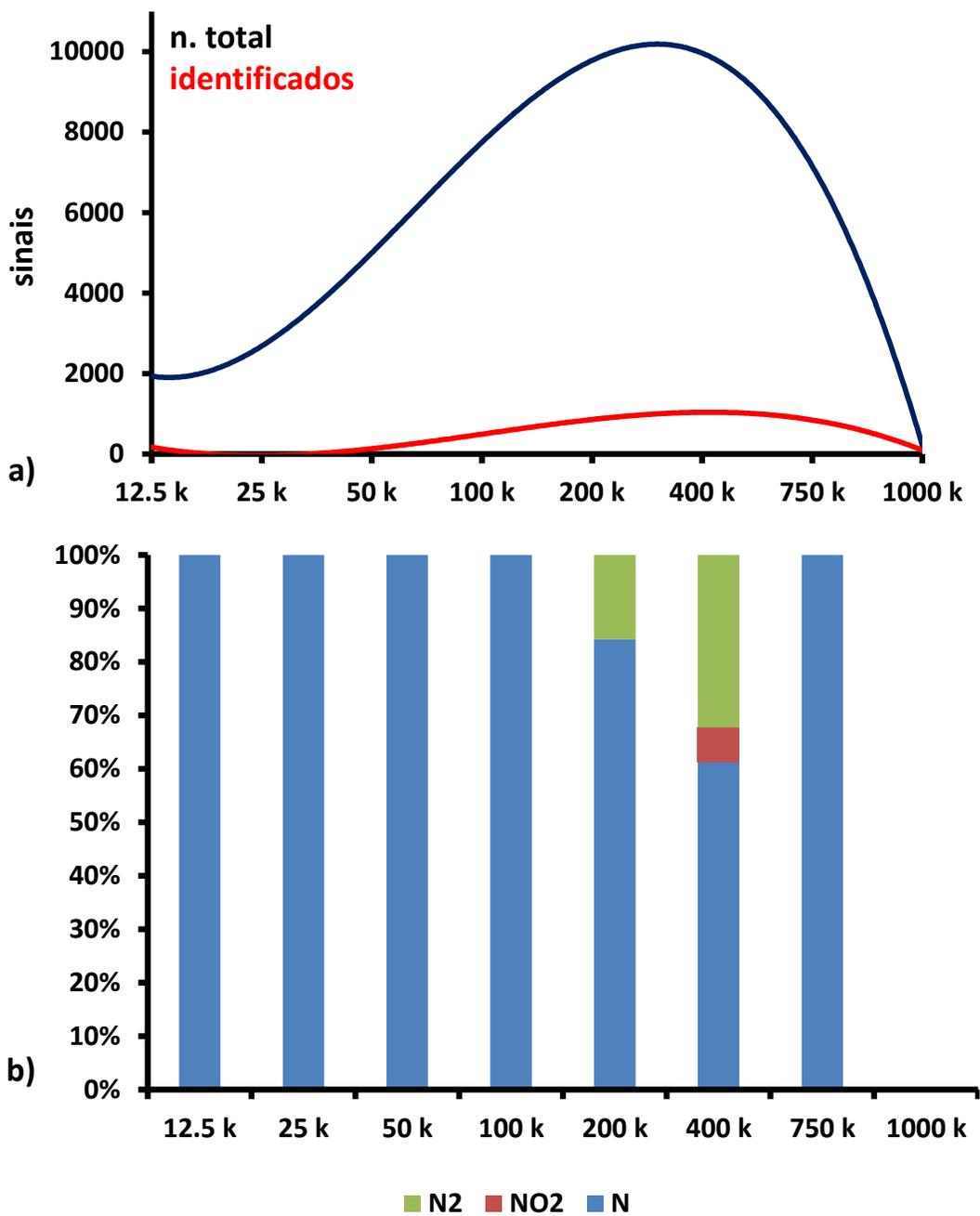


Figura 2.8. a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 1 analisado por ESI (+) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.

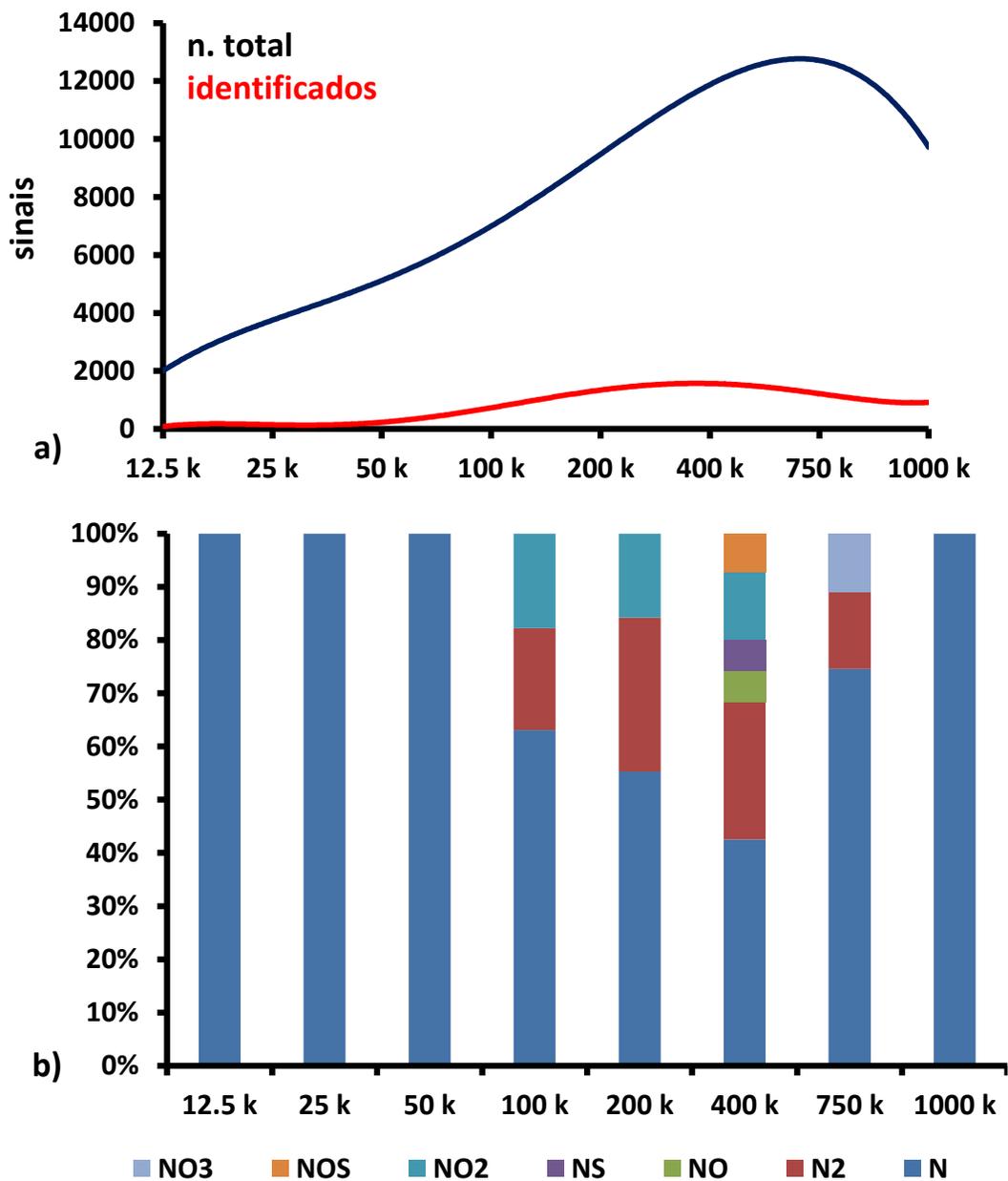


Figura 2.9. a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 2 analisado por ESI (+) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.

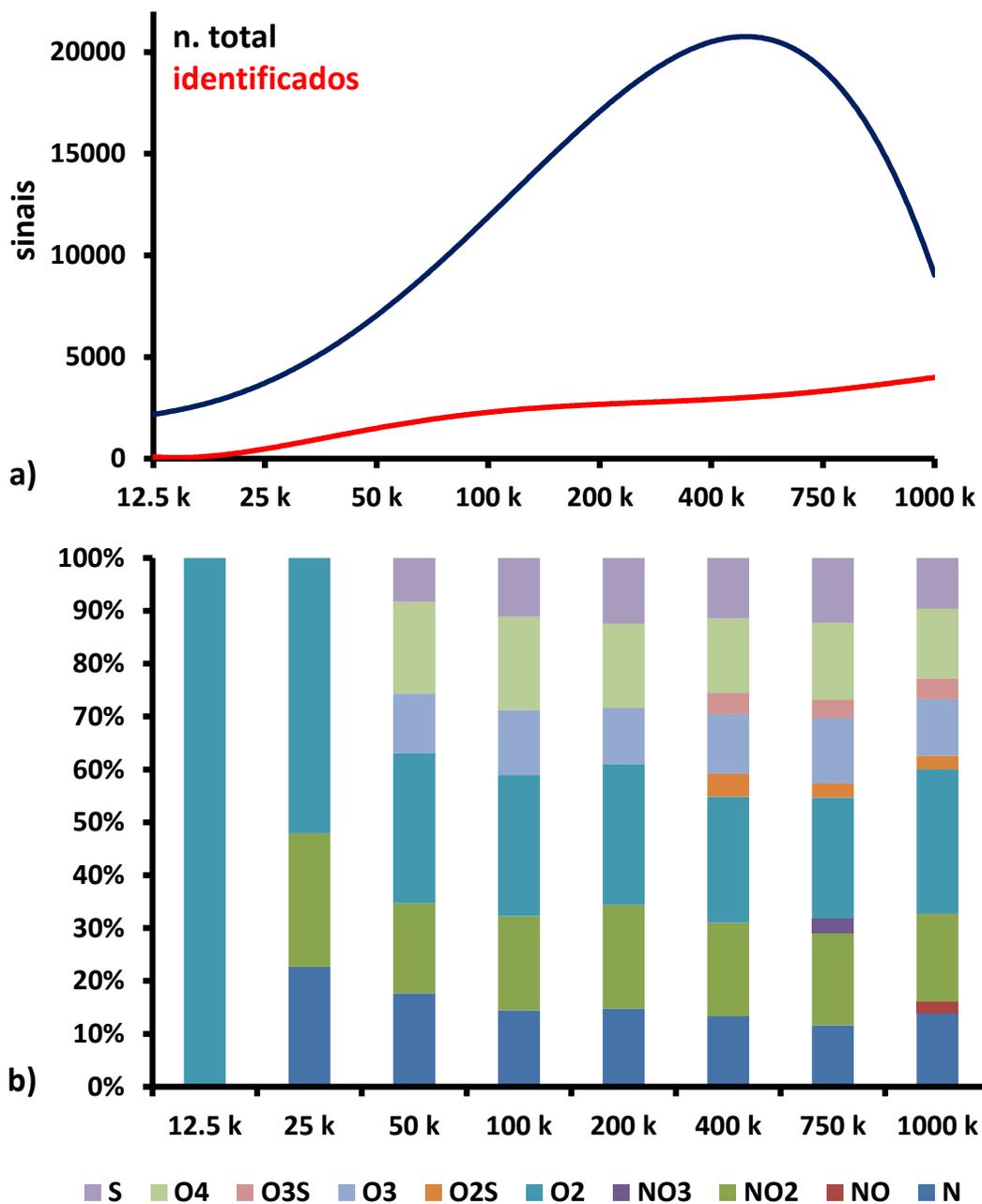


Figura 2.10. a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 1 analisado por ESI (-) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.

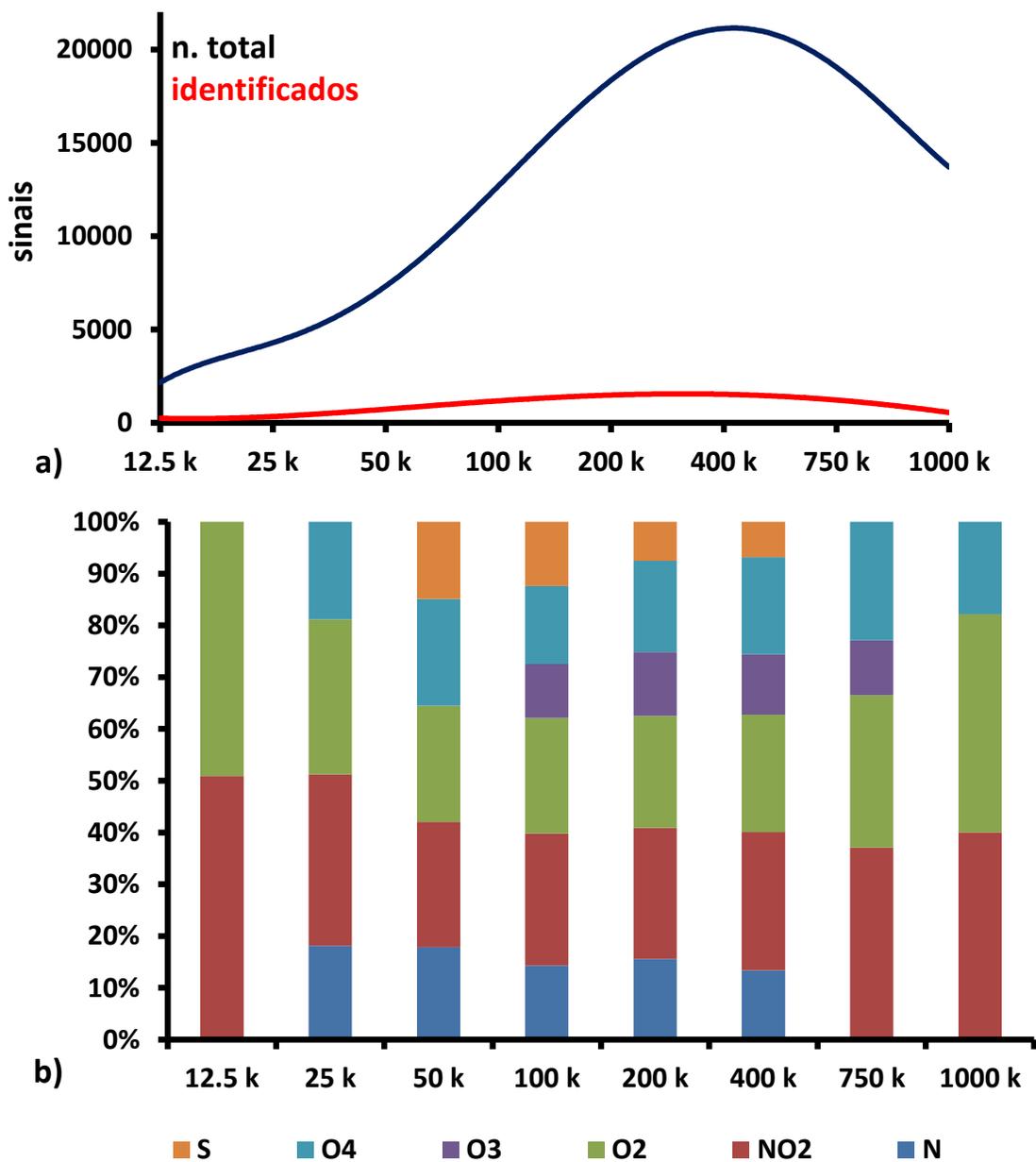


Figura 2.11. a) Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e (b) distribuição de classes de heterátomos para o Petróleo 2 analisado por ESI (-) FT-ICR MS em diferentes poderes de resolução e acúmulo de 100 μ scans.

Estes resultados mostram que tanto por ESI (+) quanto por ESI (-) a melhor resolução para análise das amostras de petróleo é 400.000@400. Utilizando 400.000@400 analisamos as mesmas amostras variando o número de μ scans para avaliar o efeito do acúmulo de scans na relação sinal/ruído do espectro final.

Quanto melhor a relação sinal ruído, mais m/z serão visualizados no espectro de massas e potencialmente mais sinais serão identificados, atribuindo-se fórmula mínima para estes valores de m/z .

A **Figura 2.12** mostra o aumento do número de sinais do espectro de massas para o Petróleo 1, com o aumento do número de μscans .

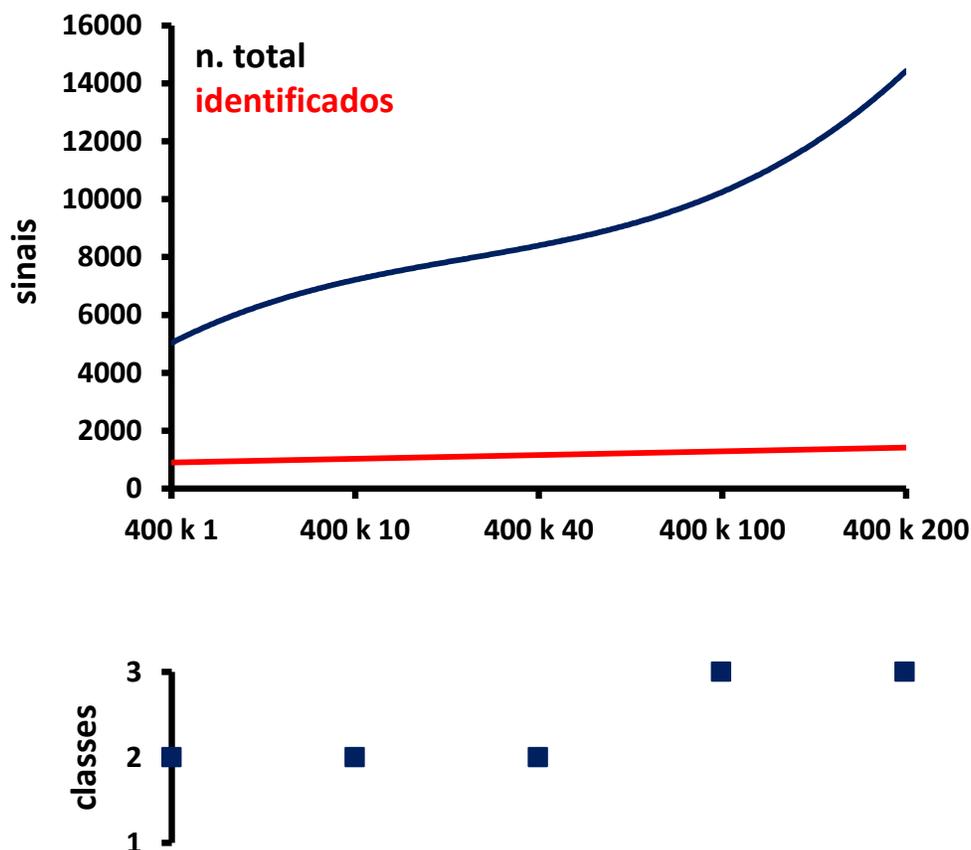


Figura 2.12. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 1 por ESI (+) FT-ICR MS em 400.000@400, variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 μscans .

Com o acúmulo de 100 μscans temos o número máximo de classes identificadas e o número máximo de sinais identificados (~1400). Acumulando o dobro de scans não resulta em aumento do número de sinais identificados, ou aumento do número de classes de heteroátomos.

Na **Figura 2.13** temos os resultados para a amostra Petróleo 2 analisado por ESI (+) FT-ICR MS em 400.000@400. Com 100 μ scans temos o número máximo de classes identificadas e o aumento de scans não aumenta substancialmente o número de sinais identificados (~1800).

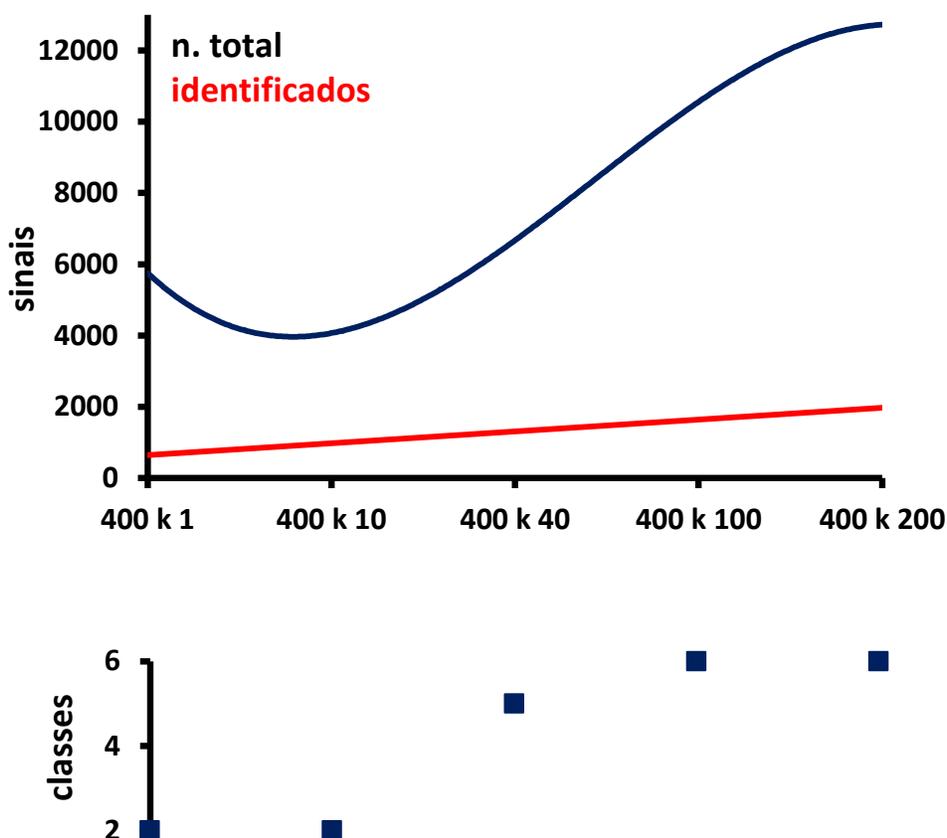


Figura 2.13. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 2 por ESI (+) FT-ICR MS em 400.000@400 variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 μ scans.

Na **Figura 2.14** temos os resultados obtidos para o Petróleo 1 analisado por ESI (-) FT-ICR MS em 400.000@400. Esta amostra apresentou aproximadamente 3000 sinais identificados em oito classes de heteroátomos, independente do acúmulo de μ scans.

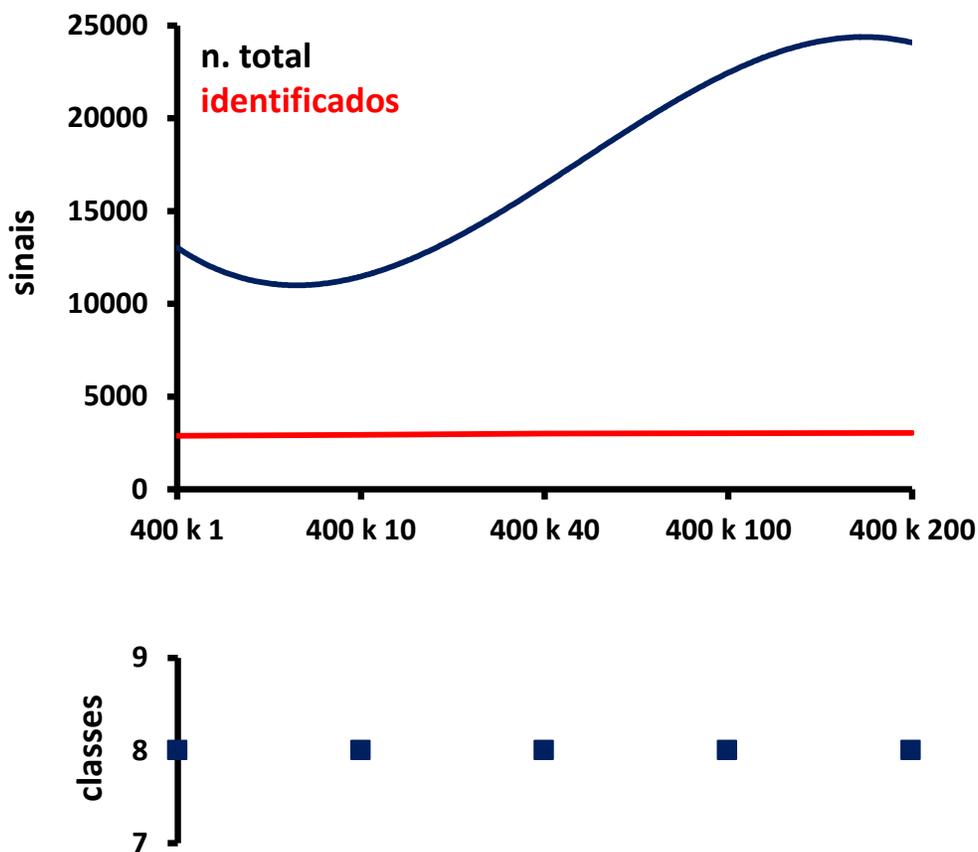


Figura 2.14. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 1 por ESI (-) FT-ICR MS em 400.000@400 variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 μ scans.

Na **Figura 2.15** temos os resultados obtidos para o Petróleo 2, analisado por ESI (-) FT-ICR MS em 400.000@400. Esta amostra apresentou aproximadamente 1800 sinais identificados em seis classes de heteroátomos, com o acúmulo de 100 μ scans. Dobrando este número de scan foi possível atribuir mais duas classes de heteroátomos com a identificação de aproximadamente 2300 sinais.

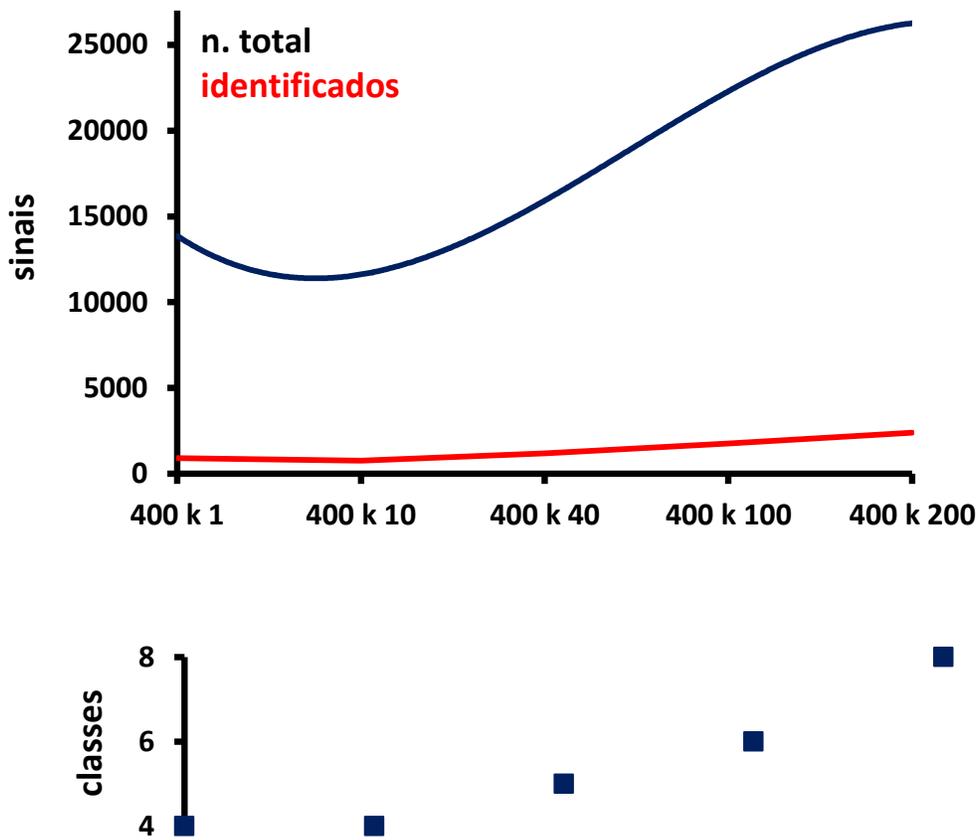


Figura 2.15. Número total de sinais de m/z , número de sinais identificados e número de classes identificadas para a análise do Petróleo 2 por ESI (-) FT-ICR MS em 400.000@400 variando o acúmulo de espectros de 1, 10, 40, 100 e 200 $\mu scans$.

Estes resultados mostram, de maneira geral, que as condições de análise com o acúmulo de 100 $\mu scans$ e poder de resolução de 400.000@400 são ideais para amostras complexas como petróleo. Resoluções inferiores prejudicam a diferenciação de isóbaros encontrados nas amostras de petróleo. A **Figura 2.16** mostra a resolução mínima necessária para separar alguns dubletos isobáricos. A análise com poder de resolução abaixo de 400.000@400 dificulta a diferenciação de algumas classes de heteroátomos. Esta diferenciação piora com o aumento de m/z . O poder de resolução do FT-ICR cai para a metade quando se dobra o valor de m/z analisado. Na **Figura 2.17** temos uma representação da distribuição de algumas classes de heteroátomos ao longo da faixa de m/z .

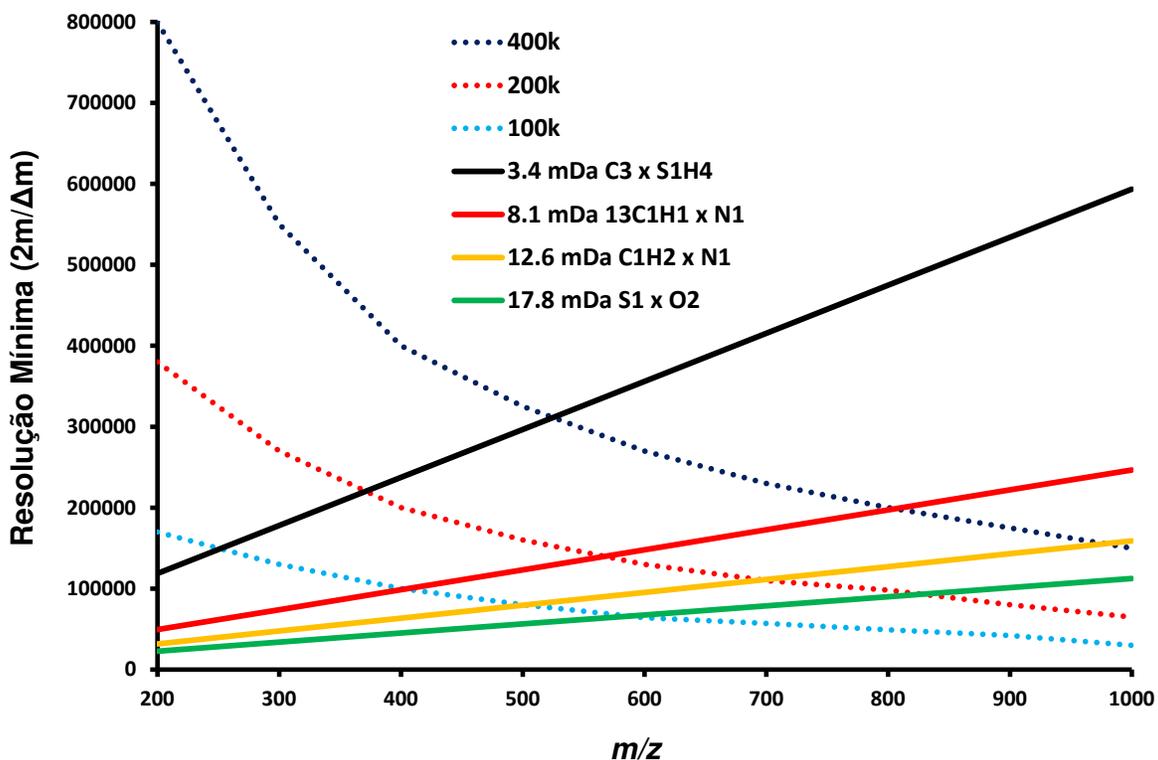


Figura 2.16. Resolução mínima para separar alguns isóbaros por FT-ICR MS e sua relação com o poder de resolução ao longo da faixa de m/z .

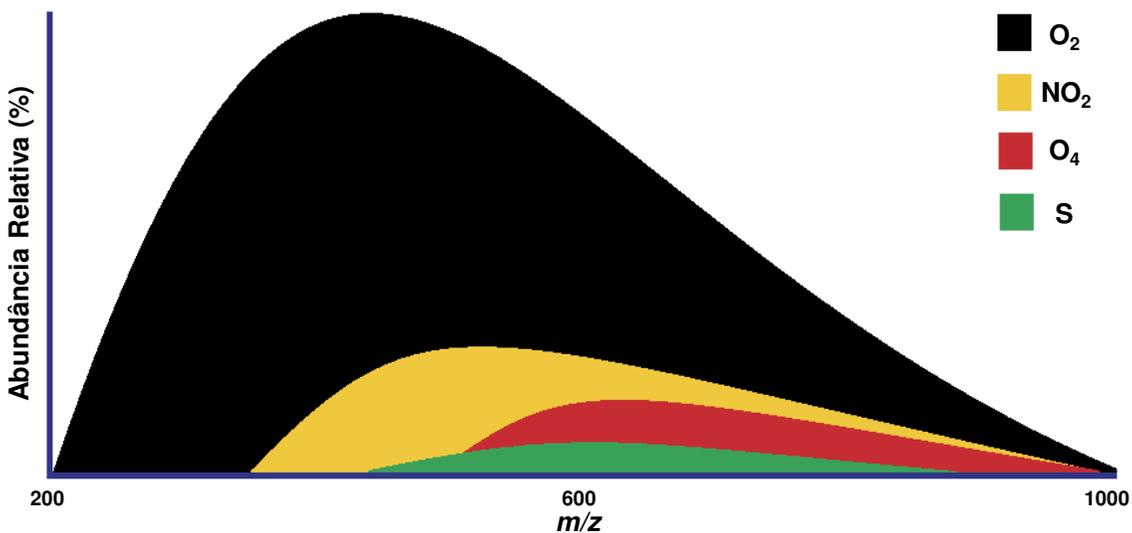


Figura 2.17. "Espectro" hipotético mostrando a distribuição relativa de algumas classes de heteroátomos ao longo da faixa de m/z .

A diminuição do poder de resolução do FT-ICR com aumento de massa e diminuição da relação sinal/ruído podem ocasionar perdas expressivas na identificação dos sinais de m/z mais altos. Deste modo necessita-se 400.000@400 de poder de resolução para ter 200.000@800 necessário para diferenciar ^{13}C x N. Poder de resolução inferior compromete até mesmo a diferenciação de CH_2 x N.

A **Figura 2.18** mostra um espectro de massas característico para a análise de petróleo. Com 400.000@400 pode-se diferenciar aproximadamente 22 mil sinais, identificando-se mais de 3000 m/z , distribuídos em oito classes de heteroátomos.

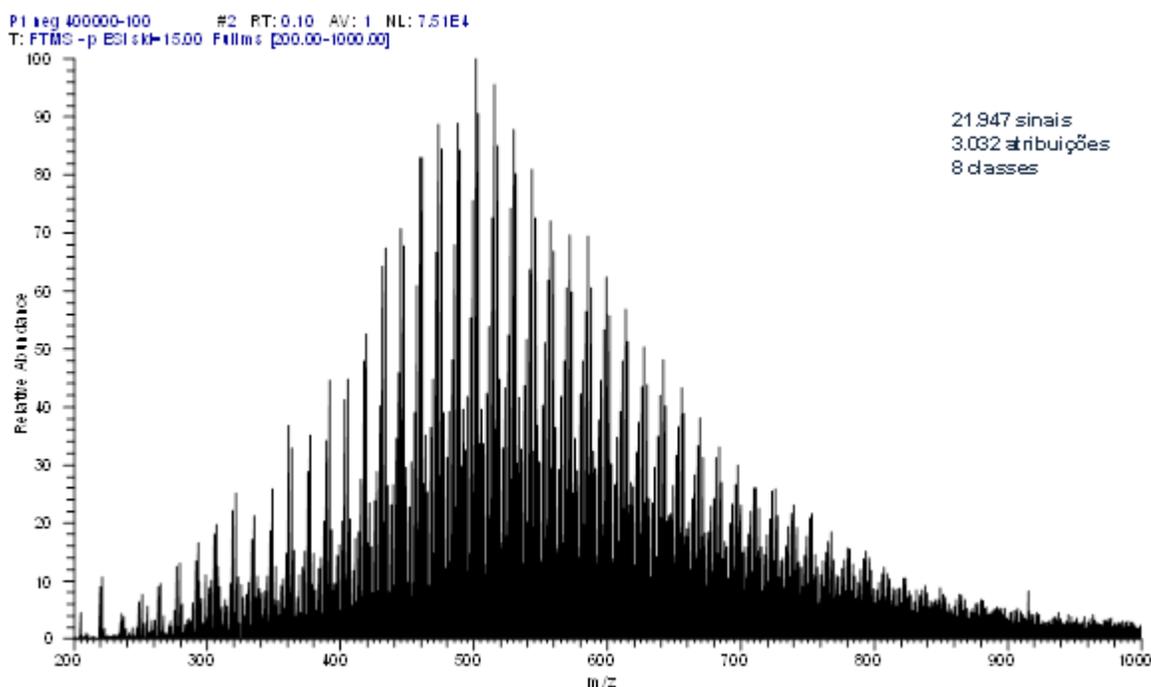


Figura 2.18. ESI(-)FT-ICR MS amostra P1 adquirida com poder de resolução 400.000@400 e acúmulo de 100 μscans .

A inspeção visual da ampliação do espectro na **Figura 2.19** permite diferenciar séries homólogas para a Classe O_2 , pelo aumento de unidades CH_2 .

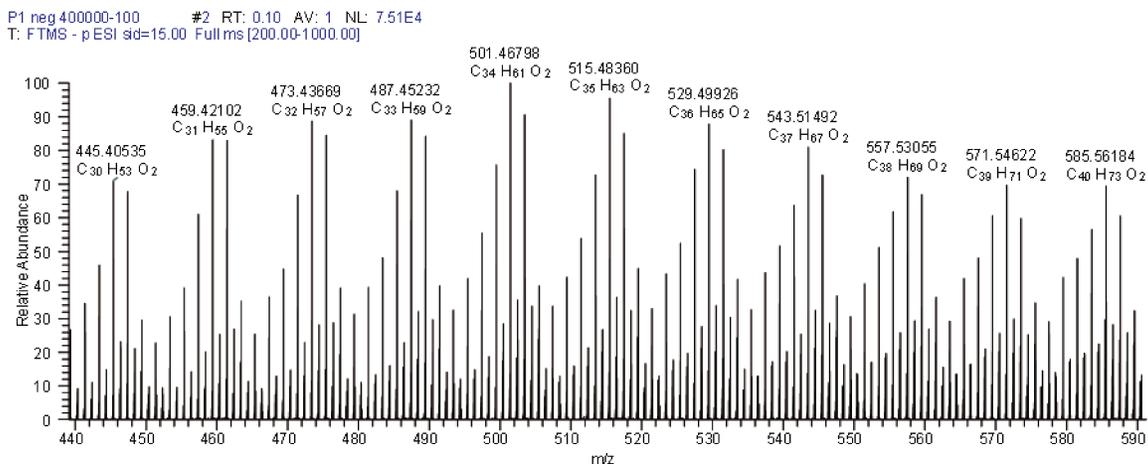


Figura 2.19. Ampliação do espectro de ESI(-)FT-ICR MS da amostra P1. O incremento de 14.0157 equivale a adição de unidades CH_2 , indicativo de uma série homóloga para mesmo DBE (equivalente de dupla ligação).

Ampliando-se mais um segmento reduzido do espectro permite observar variações de m/z correspondentes a unidades H_2 . Tomando-se os valores da direita para a esquerda, a redução de unidades de H_2 se traduz no aumento de DBE, pelo aumento de ciclizações e/ou aromatização.

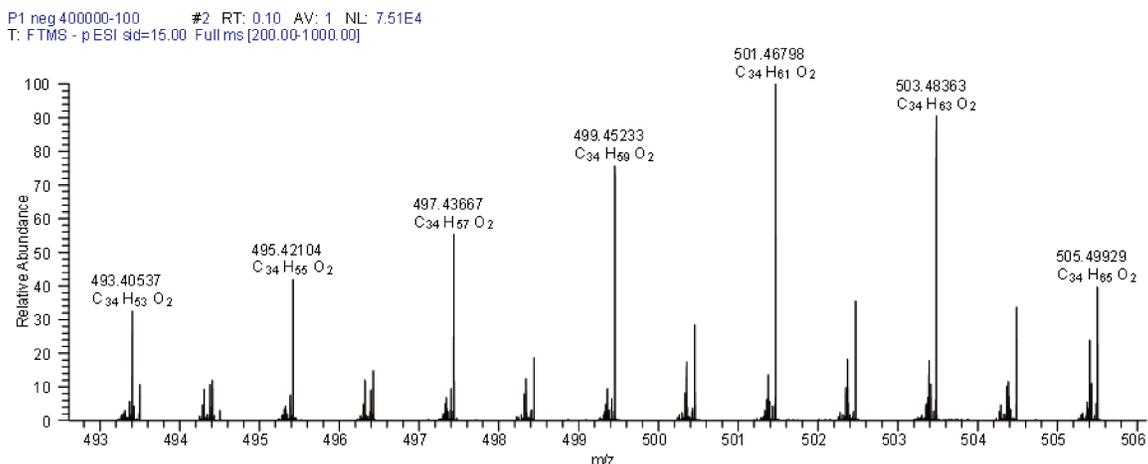


Figura 2.20. Ampliação do espectro de ESI(-)FT-ICR MS da amostra P1. A variação de 2.0157 (H_2) indica mudança de DBE (equivalente de duplas ligações).

Comparação do perfil de compostos polares em amostras de petróleo, folhelho e carvão mineral

A composição de compostos polares presentes no folhelho e carvão mineral, fontes importantes de combustíveis fósseis tanto na perspectiva mundial quanto para a realidade brasileira, ainda requer mais estudos. Após determinar o poder de resolução ideal para a análise de petróleo (400.000@400) com acúmulo de 100 μ scans, aplicamos a análise petroleômica por ESI-FT-ICR MS na comparação do perfil de compostos polares presentes na matéria orgânica encontrada no folhelho e no carvão mineral, com o perfil de algumas amostras de petróleo.

A **Figura 2.21** representa a distribuição de classes obtidas por ESI (+) FT-ICR MS para as amostras de petróleo e compostos orgânicos extraídos do folhelho e carvão mineral. Em todas as amostras a classe N (piridinas e derivados) é a classe mais abundante, seguidas das classes NO e N₂.

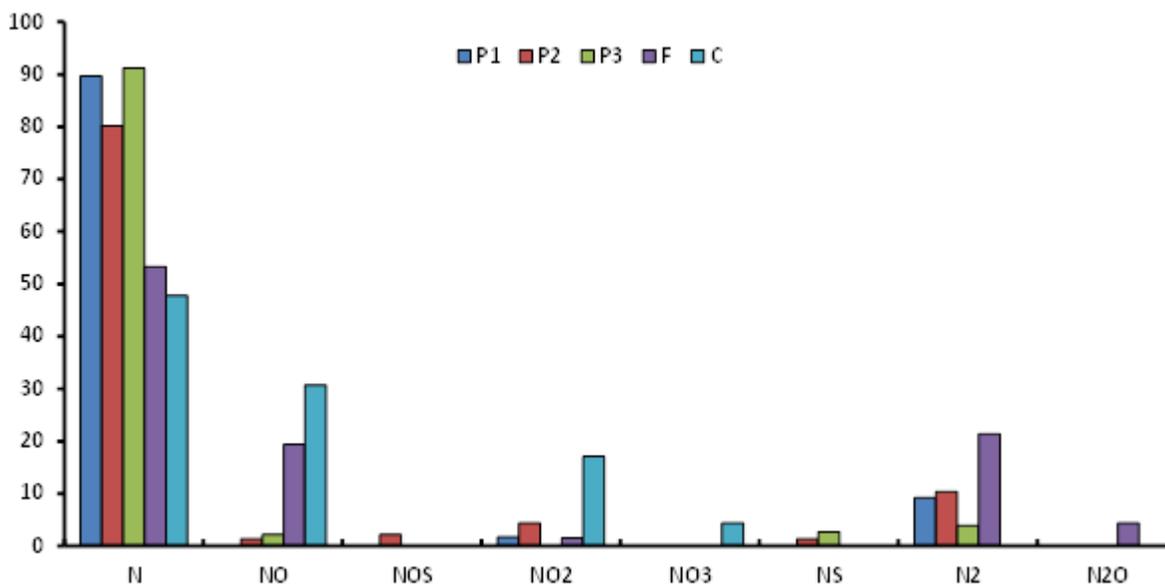


Figura 2.21. Distribuição relativa de classes de heteroátomos em amostras de petróleo (P1, P2, P3), folhelho (F) e carvão mineral (C), analisadas por ESI (+) FT-ICR MS.

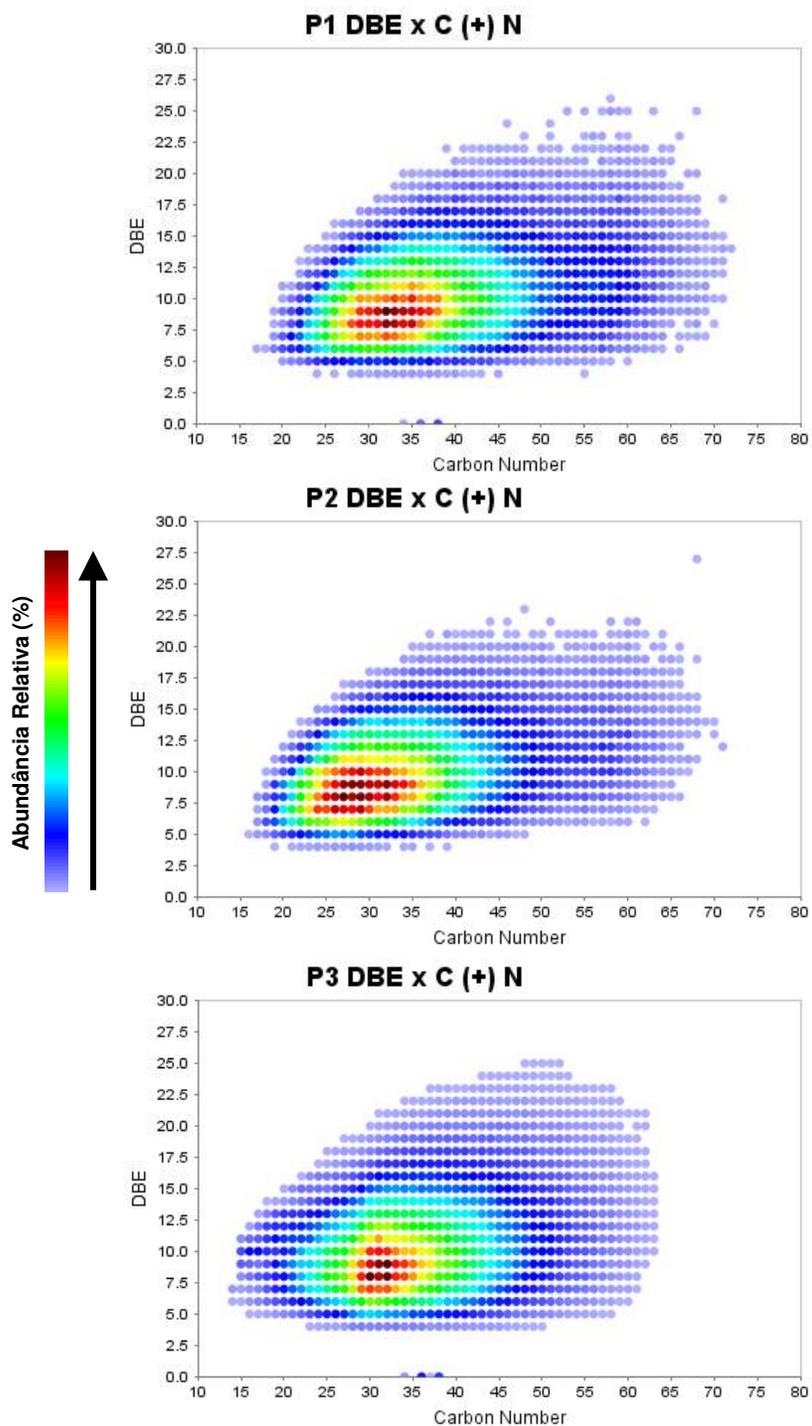


Figura 2.22. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N nas amostras de petróleo P1, P2 e P3 analisadas por ESI (+) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

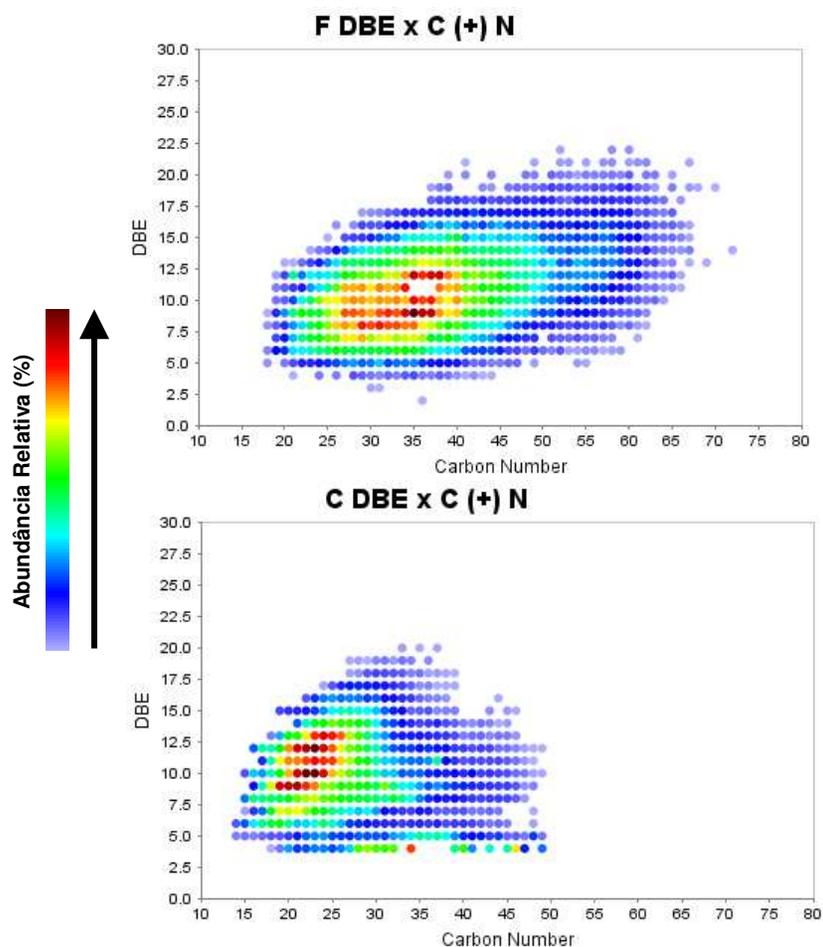


Figura 2.23. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N nas amostras de folhelho F e carvão mineral C analisadas por ESI (+) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

As **Figuras 2.22 e 2.23** representam a distribuição do número de carbono versus DBE para a classe N analisada por ESI (+) FT-ICR MS. O carvão mineral apresenta uma distribuição mais restrita dos nitrogenados básicos. A classe NO pode servir como parâmetro para o grau de evolução térmica do petróleo (Vaz, 2011). Por analogia com a evolução térmica do petróleo, podemos inferir que maior abundância da classe NO no folhelho e no carvão mineral podem explicar sua origem e deposição a baixas profundidades com baixos efeitos de temperatura e pressão. Ou seja, estas amostras poderiam estar em um grau de evolução térmica inferior às amostras de petróleo analisadas. Por outro lado o carvão mineral poderia estar em nível de maturação maior que do petróleo

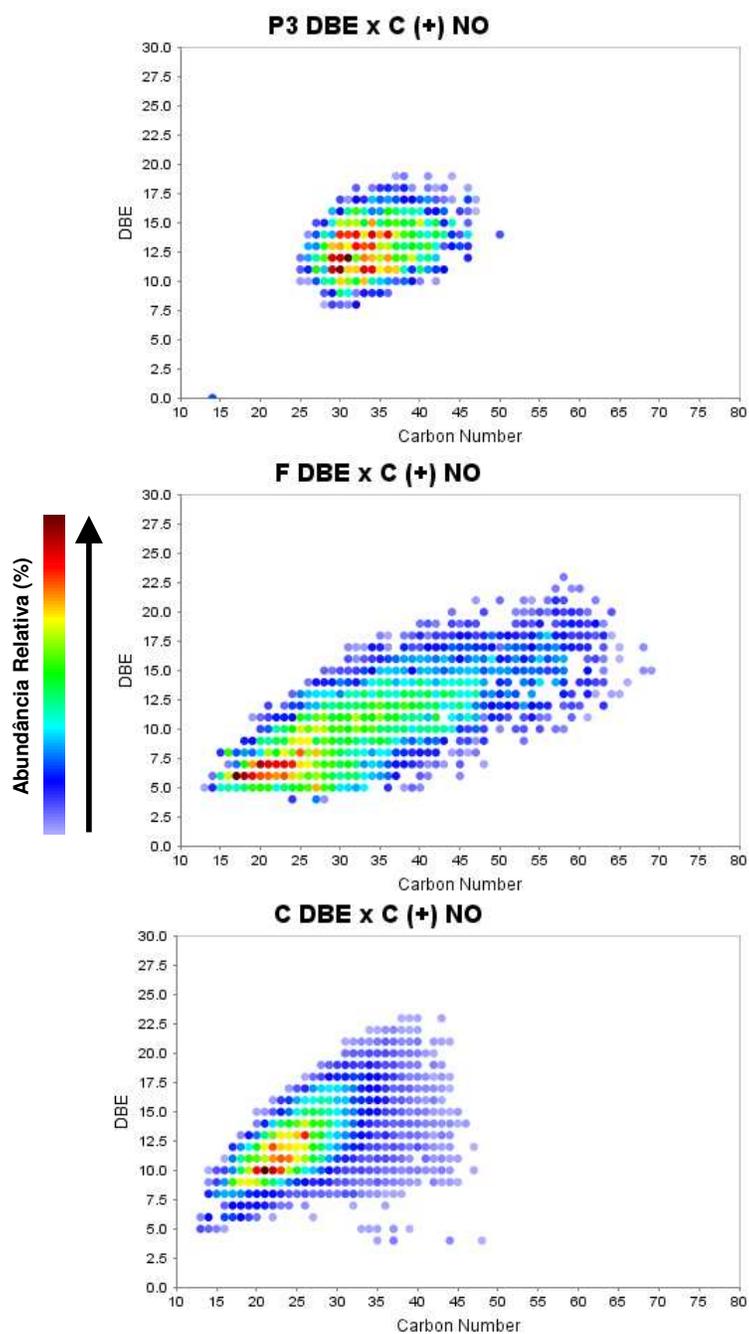


Figura 2.24. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe NO na amostra P3, F e C analisadas por ESI (+) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

analisado. Estes resultados são indicativos e mais amostras da fração polar destas matrizes devem ser analisadas para correlacionar satisfatoriamente estes resultados. Wu *et al.* (2003) analisaram amostras de carvão mineral de duas

procedências americanas e encontraram mais classes nitrogenadas (N, NO, NO₂, NO₃, NO₄, NO₅) que as observadas nesta amostra de carvão brasileiro.

A distribuição do número de carbono versus DBE para a Classe NO está detalhada na **Figura 2.24**. Pode-se observar uma distribuição maior de número de carbonos para a classe NO na amostra de compostos polares extraída do folhelho, matriz onde existe pouco grau de evolução térmica, ainda com grande quantidade de querogênio.

O perfil da distribuição de classes observadas por ESI (-) FT-ICR MS está representado na **Figura 2.25**. A distribuição das classes oxigenadas na amostra de carvão mineral brasileiro é muito similar a encontrada por Wu *et al.* (2003). A amostra de petróleo P3 apresenta principalmente a classe N (derivados de pirróis e carbazóis). As demais amostras de petróleo, folhelho e carvão mineral possuem componentes ácidos (classe O₂) em quantidades expressivas.

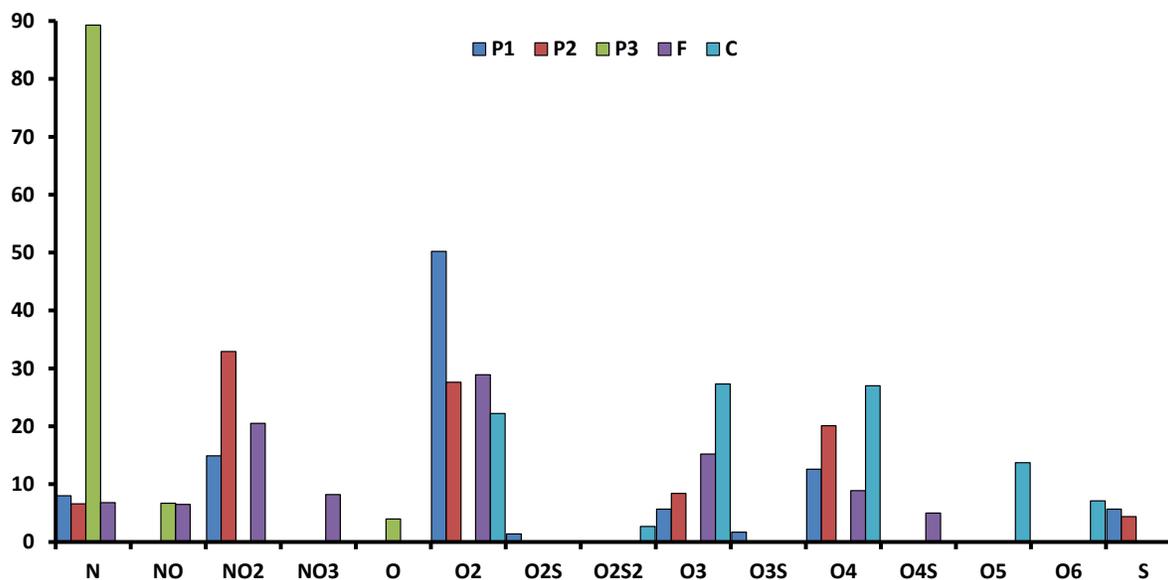


Figura 2.25. Distribuição relativa de classes em amostras de petróleo (P1, P2, P3), folhelho (F) e carvão mineral (C) analisadas por ESI (-) FT-ICR MS.

As **Figuras 2.26** e **2.27** mostram a distribuição da Classe N analisada por ESI (-) FT-ICR MS. O carvão mineral não apresentou carbazóis na sua composição. A amostra P3 possui um maior conteúdo de carbazóis, apresentando uma distribuição bem mais ampla em termos de número de carbono e DBE.

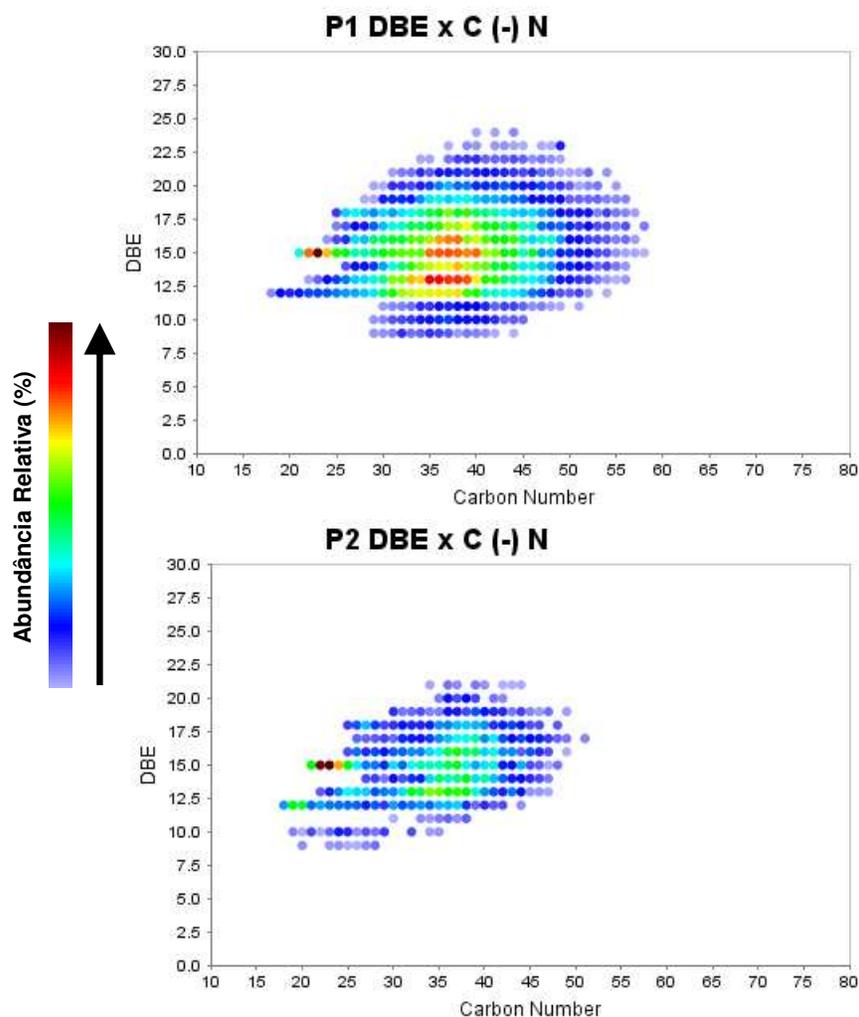


Figura 2.26. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N na amostra P1 e P2, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

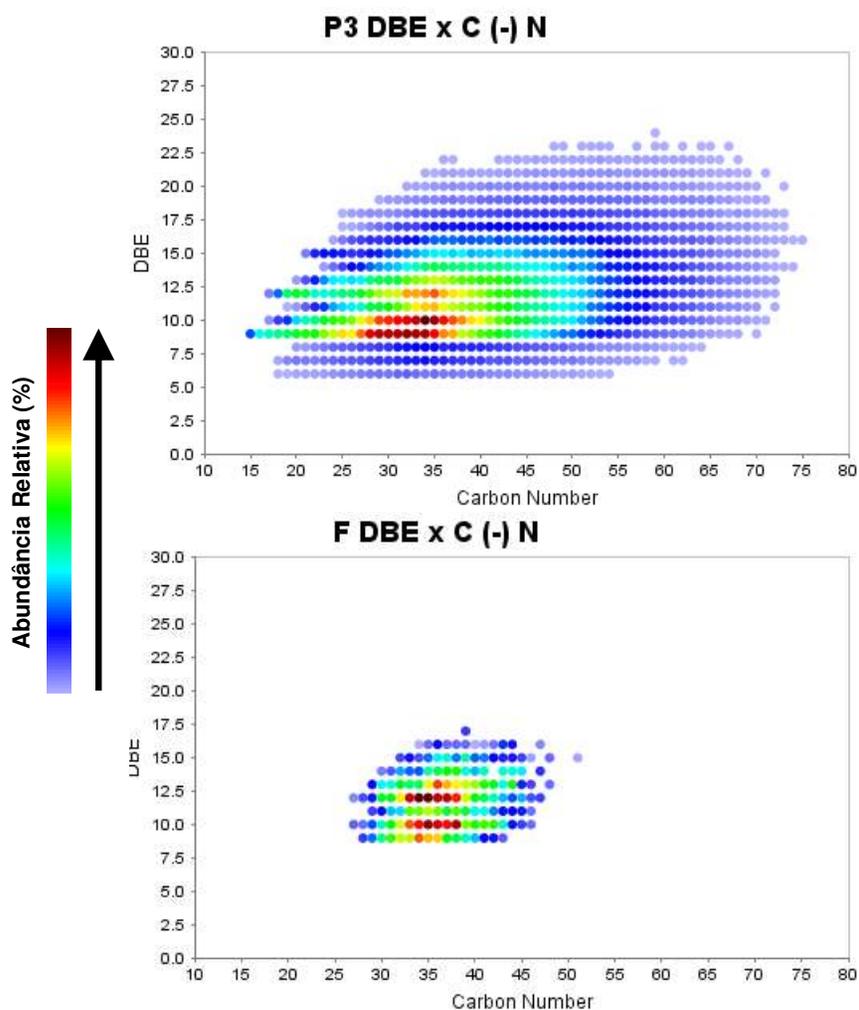


Figura 2.27. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe N na amostra P3 e F, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

A **Figura 2.28** e **2.29** mostram a distribuição dos ácidos carboxílicos (Classe O₂) nas amostras de petróleo, folhelho e carvão mineral e a **Figura 3.30** mostra a distribuição da classe NO₂.

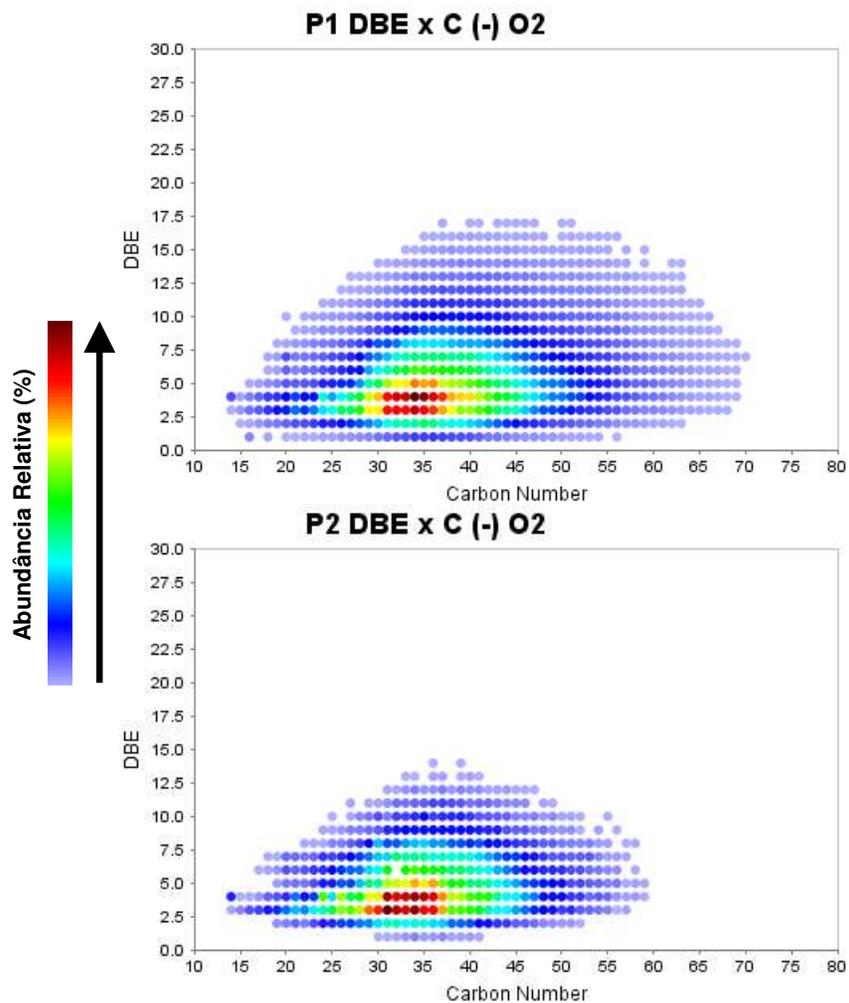


Figura 2.28. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe O₂ na amostra P1 e P2, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

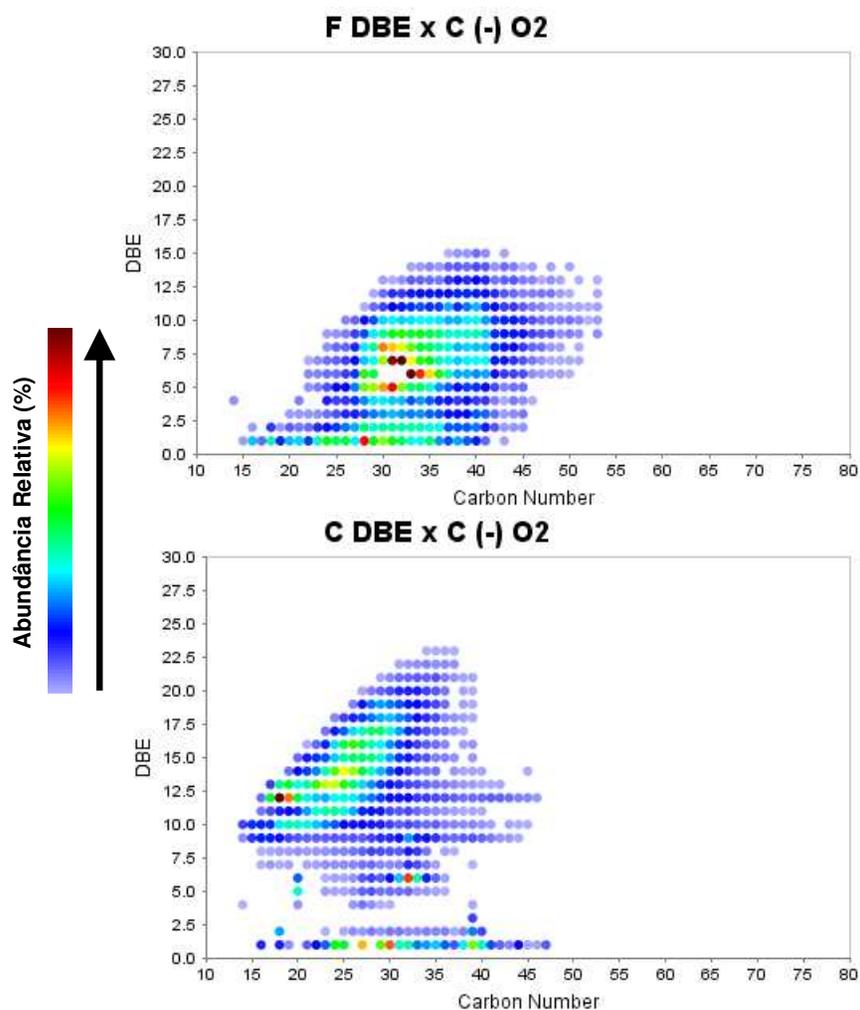


Figura 2.29. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe O₂ na amostra F e C, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

As **Figuras 2.31** e **2.32** mostram a distribuição das Classes O₂, O₃, O₄, O₅ e O₆ na amostra de carvão mineral.

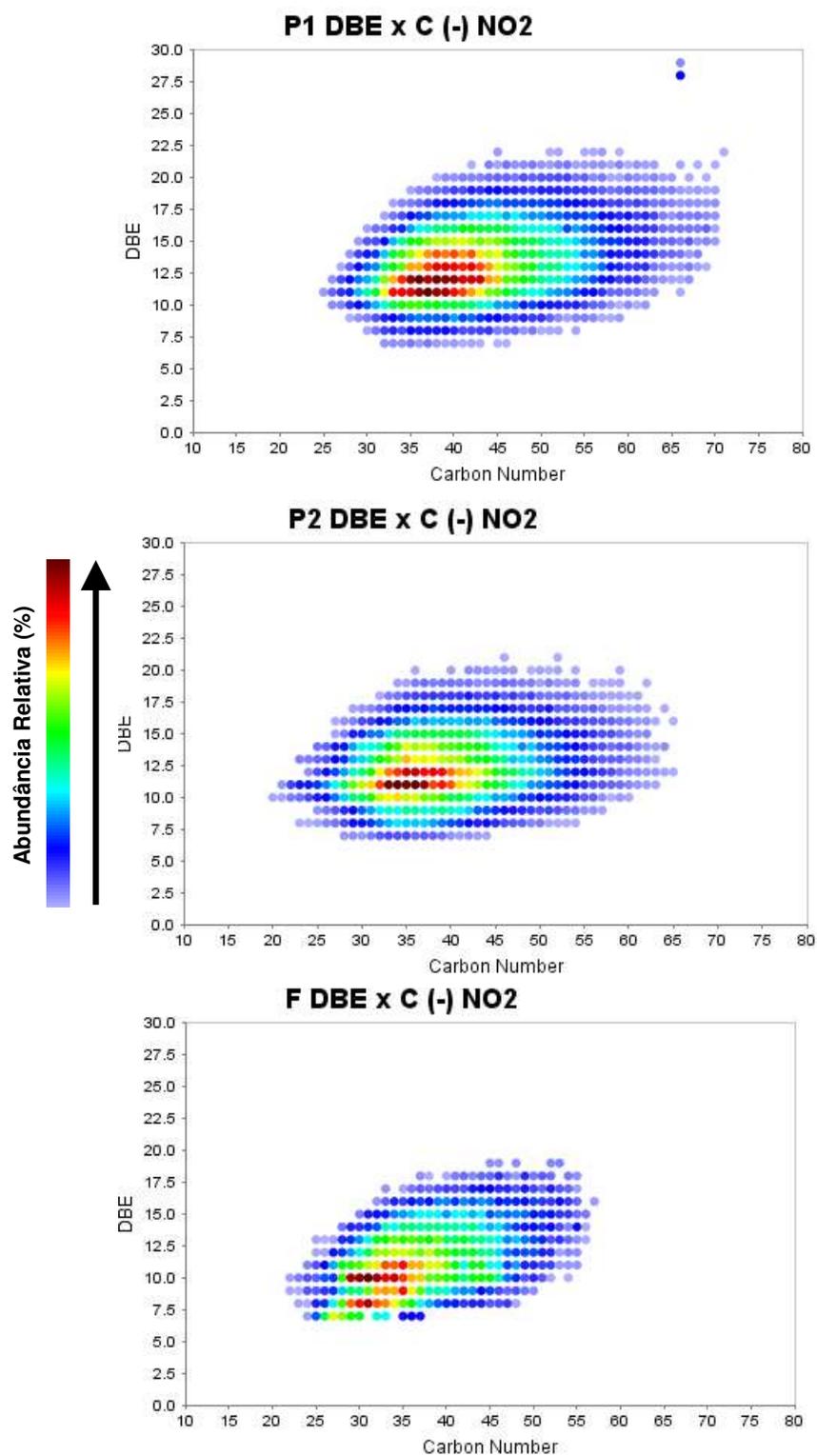


Figura 2.30. Distribuição do número de carbono versus DBE da classe NO_2 na amostra P1, P2 e F, analisadas por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μs scans.

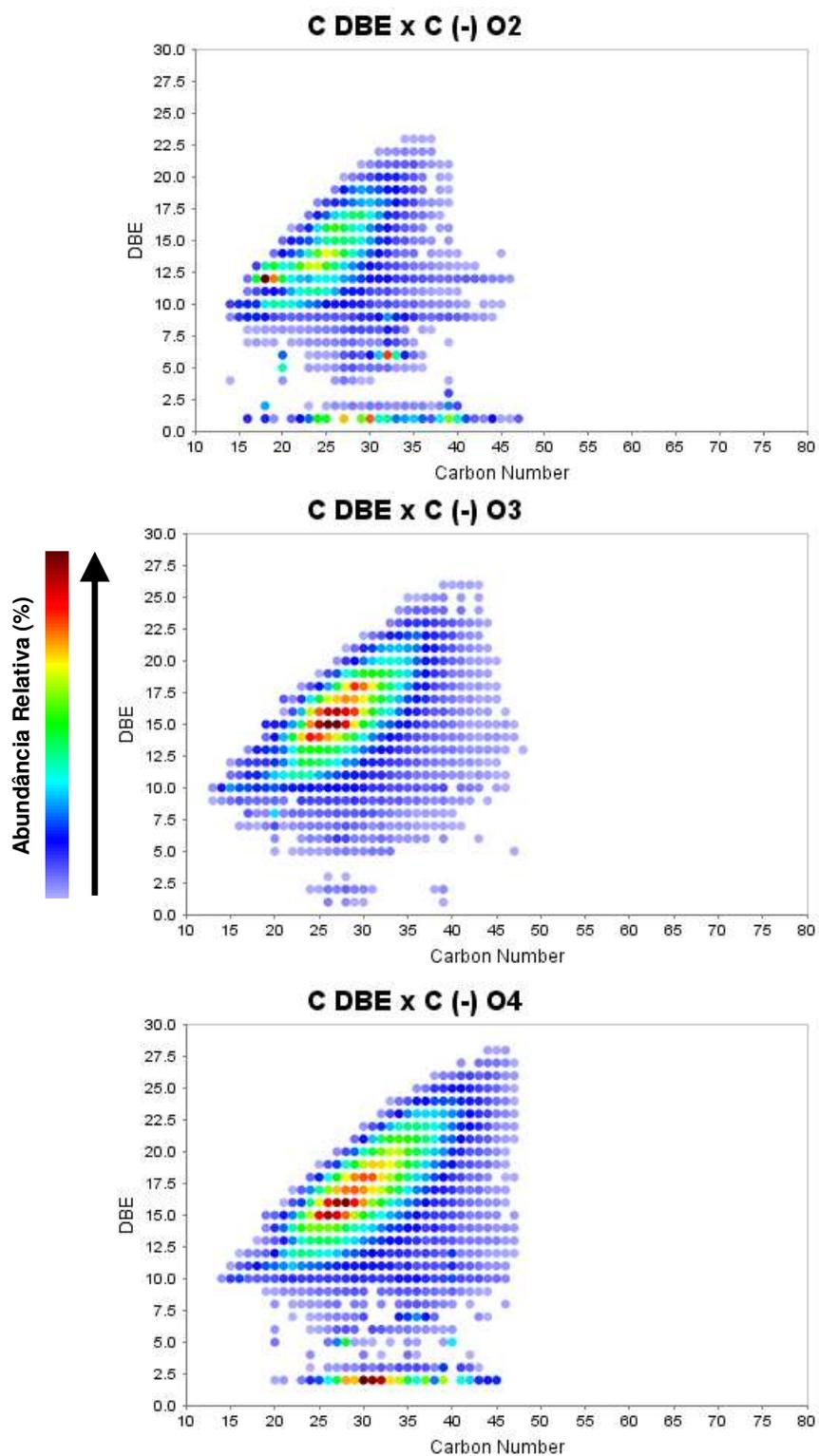


Figura 2.31. Distribuição do número de carbono versus DBE das classes O₂, O₃ e O₄ na amostra C, analisada por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

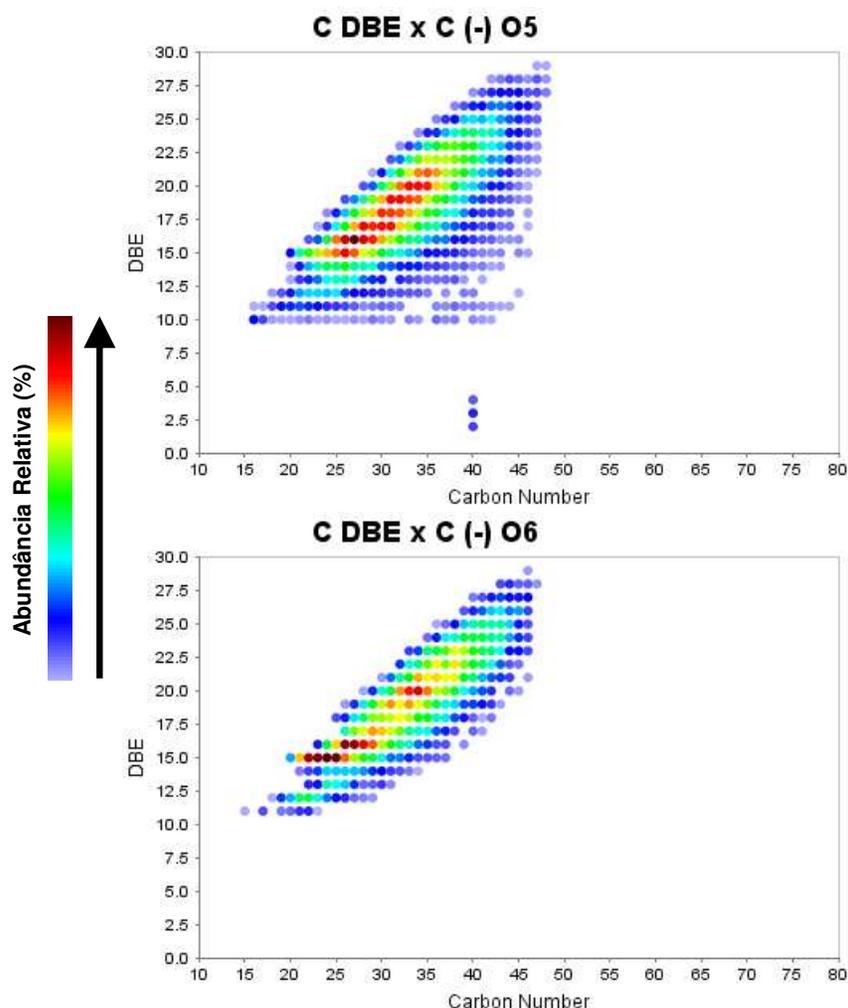


Figura 2.32. Distribuição do número de carbono versus DBE das classes O₅, O₆ na amostra C, analisada por ESI (-) FT-ICR MS 400.000@400, 100 μ scans.

A principal distinção entre petróleo, folhelho betuminoso e carvão mineral deve-se à origem. O petróleo foi basicamente formado por microorganismos planctônicos e bactérias cuja matéria orgânica com alto teor de lipídeos e proteínas sofreu betuminização, enquanto os carvões húmicos foram formados por vegetais superiores terrestres, ricos em carboidratos (Gomes *et al.* 2003). Como reflexo desta formação com matéria vegetal rica em celulose e lignina tem-se várias classes oxigenadas no carvão mineral (O₂, O₃, O₄, O₅, O₆) com boa representatividade.

Bae *et al.* (2010) analisaram, por ESI e APPI FT-ICR MS, amostras de óleo de folhelho betuminoso da Rússia e dos Estados Unidos. O APPI ioniza muito bem a classe S, não observada por ESI. As amostras da Rússia e dos Estados Unidos apresentaram algumas classes nitrogenadas observadas por ESI (+), não encontradas no folhelho brasileiro (N_3 , N_3O , N_2O_2) e por ESI (-) a classe N_2 . Estas diferenças podem ser devidas ao preparo da amostra. A amostra analisada em nosso laboratório foi extraída com tolueno:metanol, enquanto os resultados da literatura se referem a amostras obtidas por pirólise do querogênio existente no folhelho. Uma análise futura do óleo de folhelho brasileiro obtido por pirólise poderá ser realizada para uma melhor comparação com estes resultados.

2.5. CONCLUSÕES

O uso de FT-ICR MS utilizando resolução de 400.000 e aquisições com 100 μ scans mostrou-se ideal nas análises de amostras altamente complexas como petróleo.

FT-ICR MS também se mostrou útil na análise dos compostos polares extraídos de outras matrizes complexas como folhelho e carvão mineral. Comparando os resultados dos perfis de compostos polares de algumas amostras de petróleo com as amostras de folhelho e carvão mineral pode-se observar uma maior abundância das classes NO e NO_2 nestas amostras. A maior abundância destas classes pode explicar a origem e a deposição a baixas profundidades do folhelho e carvão mineral, indicando pouco efeito de temperatura e pressão na sua gênese por conta também de um menor soterramento. O carvão mineral, formado pela matéria vegetal rica em celulose e lignina, apresenta várias classes oxigenadas (O_2 , O_3 , O_4 , O_5 , O_6) como reflexo da sua origem.

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altgelt, K.H.B. *Composition and Analysis of Heavy Petroleum Fractions*. Marcel Dekker: New York, **1994**.

Bae, E.; Na, J.; Chung, S.H.; Kim, H.S.; Kim, S. *Energy Fuels*. **2010**, *24*, 2563–2569.

Caramão, E.B.; Nascimento Filho, I. *Quim. Nova* **2004**, *27*, 193-195.

Corilo, Y.E. Tese de Doutorado Instituto de Química UNICAMP **2011**, 92 p.

Gomes, A.J.P.; Cruz, P.R.; Borges, L.P. *In*: Bizzi, L.A.; Schobbenhaus, C.; Vidotti, R.M.; Gonçalves, J.H. (eds.) *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil*, CPRM: Brasília, **2003**, 577- 628.

Koch, B.P.; Witt, M.; Engbrodt, R.; Dittmar, T.; Kattner, G. *Geochim. et Cosmochim. Acta* **2005**, *69*, 3299-3308.

Kujawinski, E.B.; Longnecker K.; Blough, N.V.; Del Vecchio, R.; Finlay, L.; Kitner, J.B.; Giovannoni, S.J *Geochim. et Cosmochim. Acta* **2009**, *73*, 4384-4399.

Marshall, A.G. *Accounts of Chemical Research*. **1985**, *18*, 316-322.

Marshall, A.G.; Rodgers, R.P. *Accounts of Chemical Research* **2004**, *37*, 53-59.

Marshall, A.G.; Rodgers, R.P. *PNAS* **2008**, *105*, 18090-18095.

Milani, E.J.; Araújo, L.M.. *In*: Bizzi, L.A.; Schobbenhaus, C.; Vidotti, R.M.; Gonçalves, J.H. (eds.) *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil*, CPRM: Brasília, **2003**, 541-576.

Tissot, B.P.; Welte, D.H. *Petroleum Formation and Occurrence*. Springer-Verlag: Berlin, **1984**.

Vaz, B.G. Tese de Doutorado Instituto de Química UNICAMP **2011**, 154 p.

Wu, Z.; Jernstro, S.; Hughey, C.A.; Rodgers, R.P.; Marshall, A.G. *Energy Fuels* **2003**, *17*, 946-953.

CAPÍTULO 3

Petroleômica via ESI FT - ICR MS versus FAB MS: Caracterização de Ácidos Naftênicos em Amostras de Petróleos Brasileiros

3.1. INTRODUÇÃO

O petróleo é uma mistura complexa, constituída de milhares de compostos e sua caracterização é fundamental em diversos processos. Uma abordagem moderna para a caracterização total dos compostos polares do petróleo é realizada através da petroleômica, utilizando a espectrometria de massas de altíssima resolução e exatidão, obtida em espectrômetros de ressonância ciclôtrica de íons, com análise por transformada de Fourier (FT-ICR MS). A petroleômica por ESI-FT-ICR MS permite a análise e a classificação dos compostos polares, presentes em óleos, de maneira rápida e com altíssima resolução e exatidão os compostos polares podem ser analisados em poucos segundos, diretamente de uma amostra bruta, determinando-se assim a presença e a quantidade relativa de classes, suas séries homólogas, número de carbonos e DBE, por meio da apresentação dos resultados em diagramas específicos direcionados a diferentes aplicações que permitem ao usuário fácil visualização dos resultados.

É crescente o interesse pelos constituintes ácidos presentes no petróleo. Além do uso desta classe de compostos polares na identificação do grau de maturação, biodegradação e migração do petróleo; o conhecimento sobre a composição da fração ácida é importante pela associação desta classe de compostos com a corrosão, e formação de depósitos e emulsões (Qian *et al.* 2008; Headley *et al.* 2009) de nftenatos de cálcio e sódio. A **Figura 3.1** exemplifica alguns ácidos encontrados no petróleo.

Uma técnica amplamente utilizada na análise dos componentes ácidos do petróleo é o fracionamento químico, seguido da análise por FAB MS (Olsen,

2002). A análise por FT-ICR MS pode substituir os procedimentos comumente empregados para a análise da fração ácida do petróleo por outras técnicas.

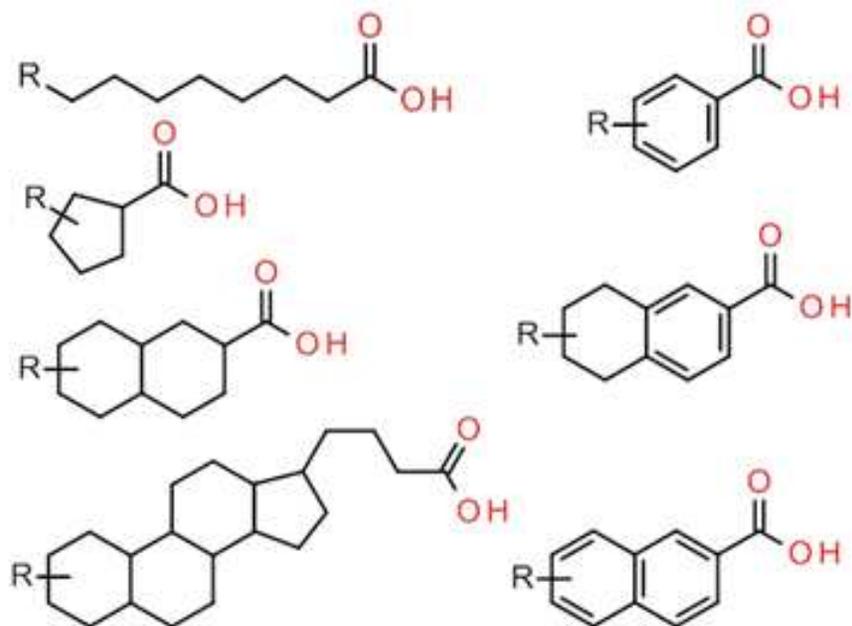


Figura 3.1. Exemplos de ácidos encontrados no petróleo. Linear, cíclicos saturados (naftênicos) e aromáticos.

3.2. OBJETIVOS

Nesta etapa do projeto buscou-se analisar os constituintes ácidos diretamente por ESI (-) FT-ICR MS na amostra de petróleo diluída em tolueno-metanol, sem qualquer fracionamento ou purificação da amostra; comparando os resultados com as análises prévias realizadas por FAB MS no CENPES-PETROBRAS.

3.3. PARTE EXPERIMENTAL

Amostras de petróleo. As amostras fornecidas pelo CENPES – PETROBRAS foram pesadas (3-6 mg) e diluídas em tolueno-metanol 1:1 (v/v)

para a concentração de $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Para as análises em ESI (-) foi adicionado 0,1% de hidróxido de amônio (v/v).

Análise por ESI (-) FT - ICR MS. As análises foram efetuadas em um espectrômetro de massas LTQ FT Ultra 7.2 T (Thermo Scientific Bremen, Alemanha) com fonte ESI. As amostras foram infundidas com a utilização de uma bomba de seringa em vazão de $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A fonte de ESI foi operada nos seguintes parâmetros: ESI (-) com potencial do spray – 3,1 kV; potencial do capilar de transferência - 40 V; potencial do tube lens - 100 V; temperatura do capilar 280 °C. Os espectros foram adquiridos na faixa de 200 – 1000 m/z com acúmulo de 100 μs com poder de resolução de $400.000@400$ ($m/\Delta m$ em m/z 400) e processados através do programa Xcalibur 2.0 SR2 (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha). O FT-ICR MS foi previamente calibrado na faixa de m/z de 150-2000 com a solução de calibrante (calmix Thermo Scientific) por ESI (-), sendo o erro de m/z inferior a 1 ppm.

Processamento dos dados. Os espectros foram exportados como arquivos TXT contendo as razões m/z e respectivas intensidades absolutas e processados no programa PetroMS 3.0 *Beta* desenvolvido no Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas (Corilo, 2011). Este programa de análise petroleômica permite a recalibração do espectro de massas baseada na distribuição de séries homólogas conhecidas para petróleo e permite a atribuição de fórmula molecular, representação da abundância relativa das classes de heteroátomos, construção de gráfico de distribuição do número de carbono versus DBE.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 30 amostras analisadas apresentam alto teor de ácidos ($\text{TAN} > 0,5 \text{ mg KOH}\cdot\text{g}^{-1}$ de petróleo) com potencial corrosivo. Os ácidos carboxílicos (classe O_2) são os principais componentes de todas as amostras analisadas, também apresentando as classes N, O e O_3 .

Os resultados das análises por ESI (-) FT - ICR MS mostraram padrões semelhantes com os resultados de FAB MS. A **Figura 3.2** compara os valores de massa molecular média para nove amostras de petróleo analisadas por FT – ICR MS e FAB MS. Podem-se perceber variações menores que 10% para as análises realizadas com FAB MS em relação aos resultados por FT-ICR MS.

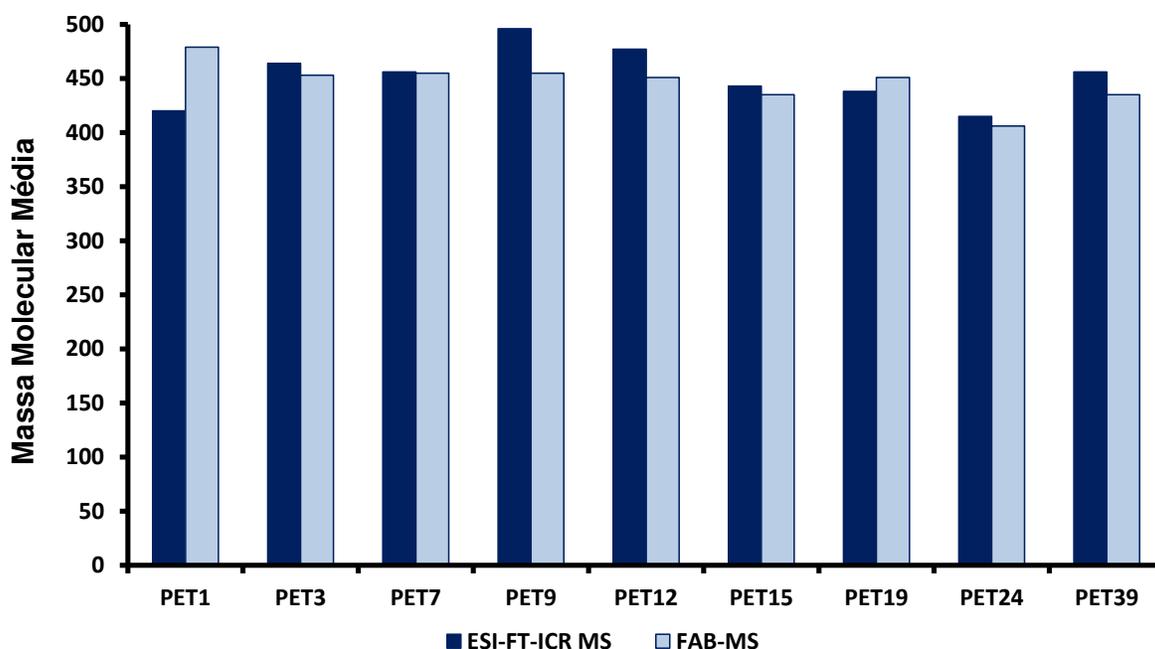


Figura 3.2. Comparação das massas moleculares médias da Classe O₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.

As **Figuras 3.3, 3.4 e 3.5** mostram alguns resultados para a distribuição de DBE em algumas amostras. As análises por FAB MS só conseguem discriminar até DBE 7, enquanto que os resultados das análises por FT-ICR MS mostram distribuições de ácidos carboxílicos até DBE 13.

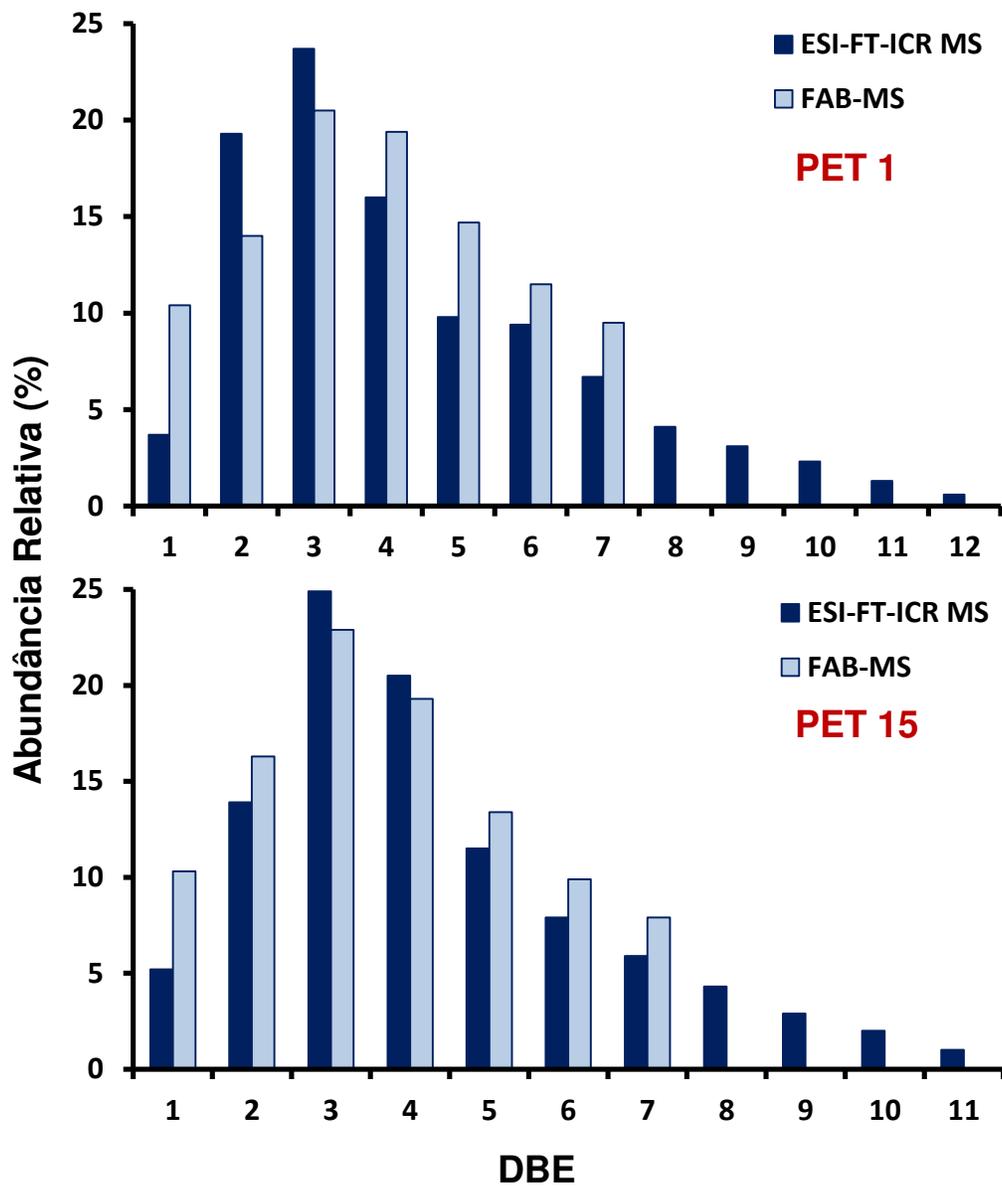


Figura 3.3. Comparação da distribuição relativa de DBE da Classe O₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.

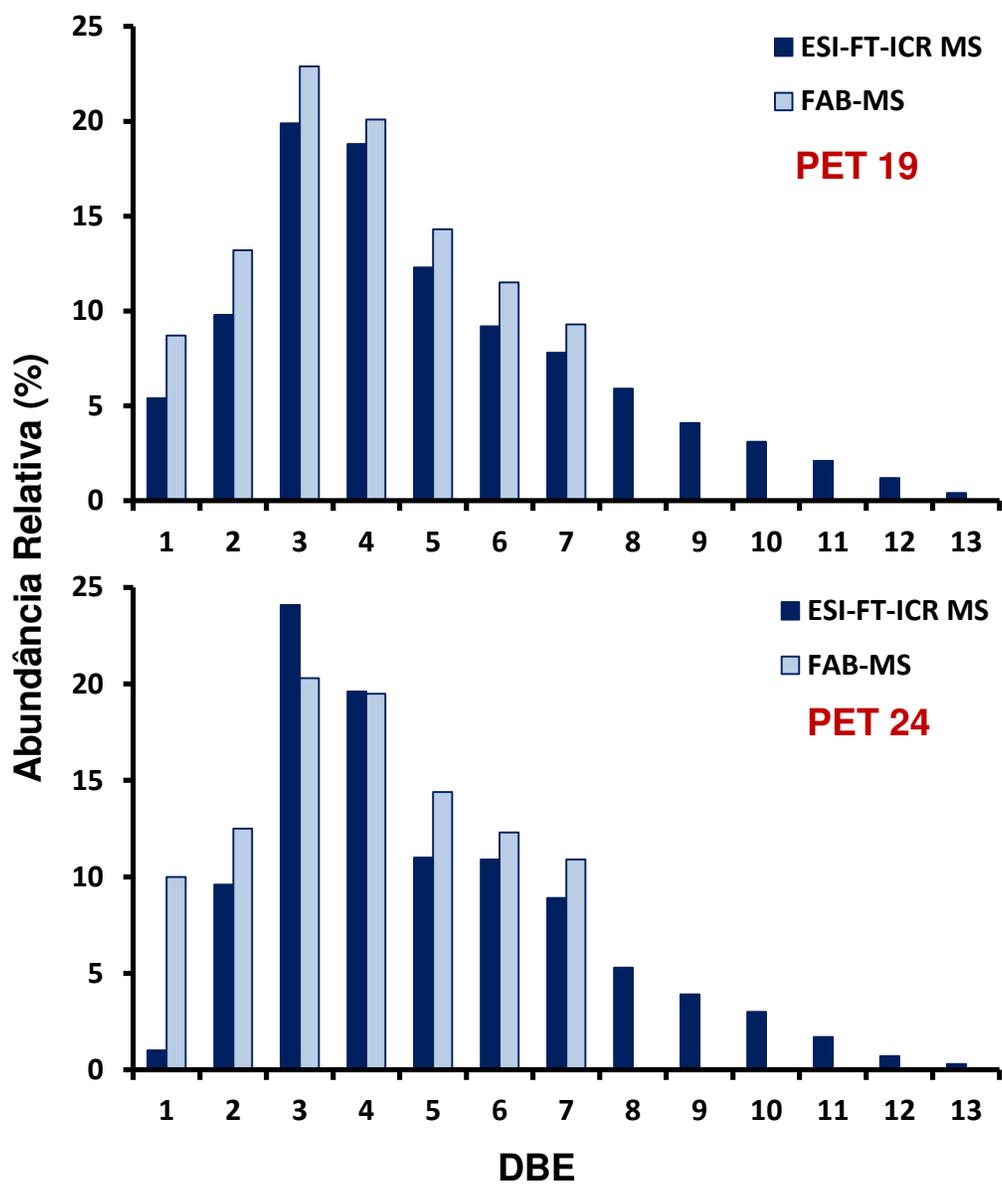


Figura 3.4. Comparação da distribuição relativa de DBE da Classe O₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.

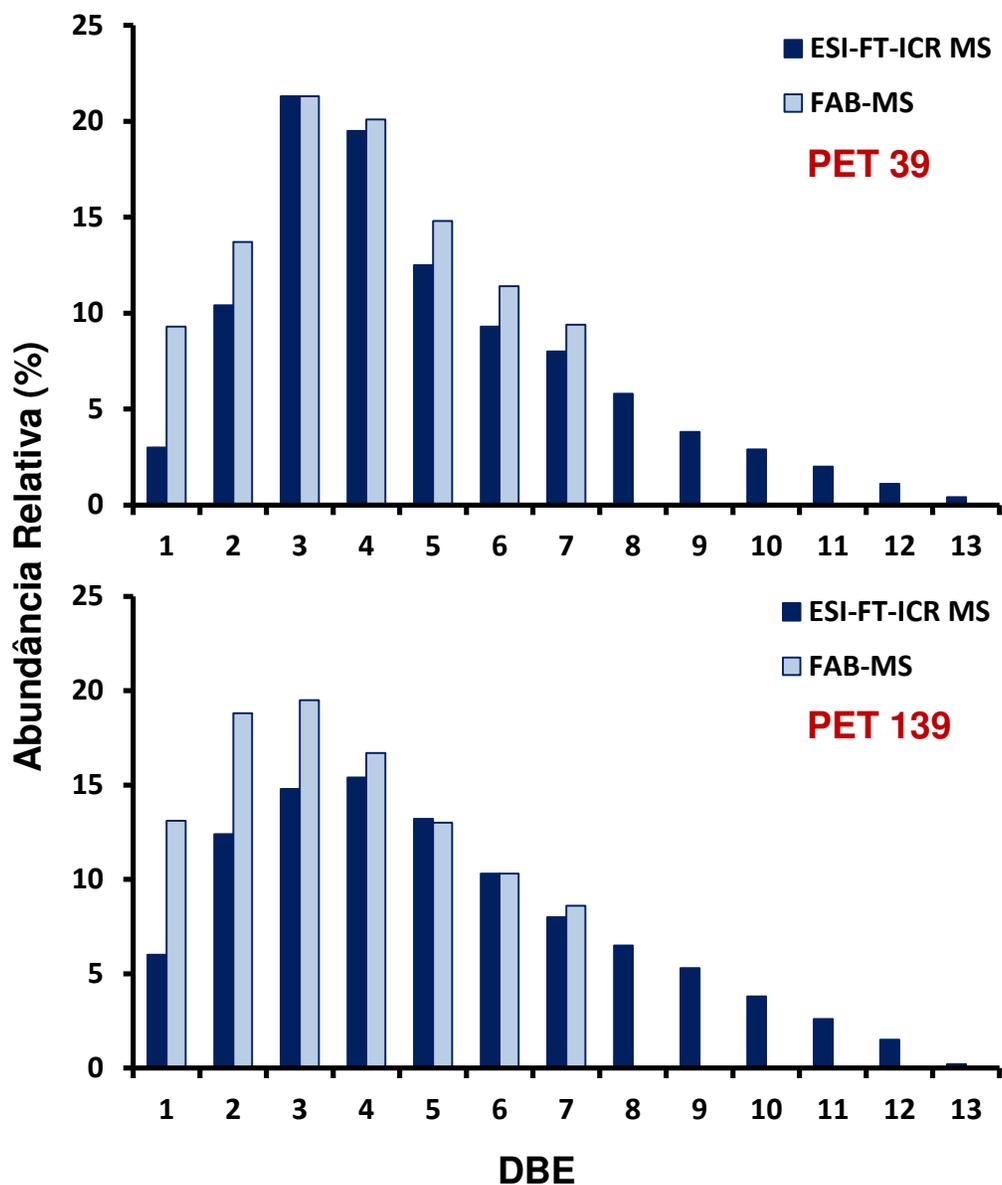


Figura 3.5. Comparação da distribuição relativa de DBE da Classe O₂ para amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS e por FAB MS.

A resolução do analisador de setor magnético do FAB MS, muito inferior ao ESI FT-ICR MS , não discrimina DBE superior a 7, sendo estas intensidades destes íons somadas as DBE baixas 1, 2, 3 de mesma série homóloga. Desta maneira, as DBE mais baixas aparecem superestimadas nos resultados por FAB MS. A **Figura 3.6** descreve como ocorre este erro no FAB MS pela impossibilidade

de discriminar dubletos isobáricos de ácidos carboxílicos de DBE 8 e 1; 9 e 2; 10 e 3; e assim sucessivamente.

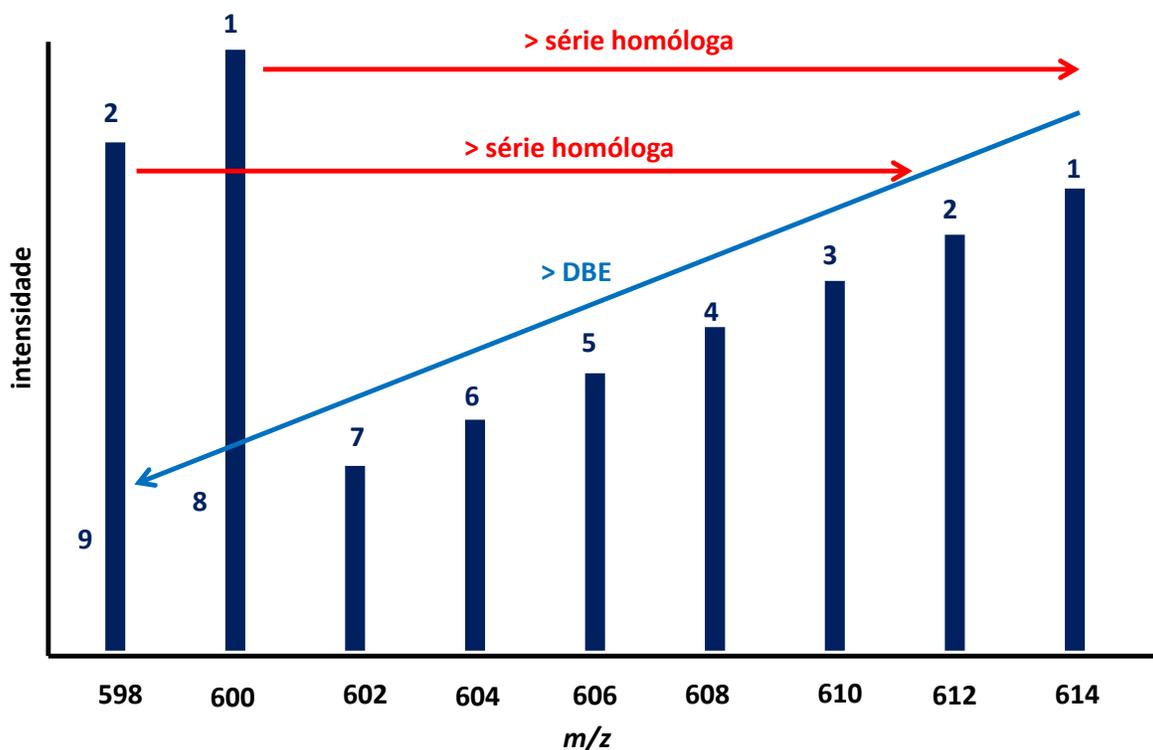


Figura 3.6. Distribuição hipotética de DBE e relação com a série homóloga.

Os DBE mais abundantes nas amostras analisadas são característicos dos compostos do tipo ácido naftênico, de grande importância na indústria petrolífera por causar corrosão, depósitos (naftenatos de cálcio) e emulsões (naftenato de sódio).

Nas **Figuras 3.7 e 3.8** tem-se os diagramas de número de carbono versus DBE para algumas amostras de petróleo analisadas, ricas na Classe O₂. Pode-se perceber que todas amostras apresentam desde ácidos carboxílicos lineares saturados (com DBE 1) até ácidos aromáticos de DBE 14 a 15. A amostra de petróleo PET 139 apresenta uma maior distribuição de ácidos, tanto em ácidos mais pesados (maior número de carbonos) quando de maiores DBE.

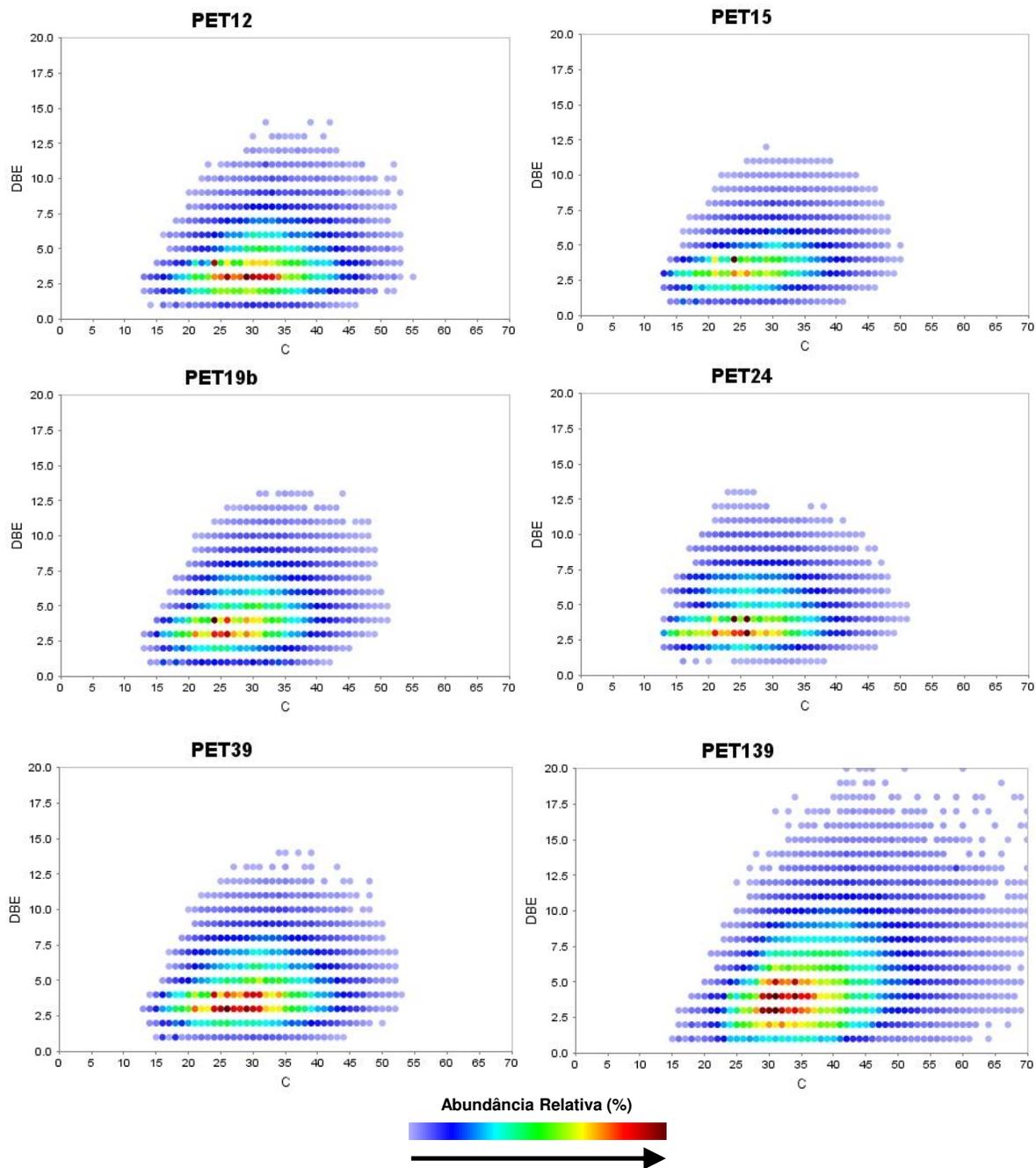


Figura 3.7. Distribuição do número de carbono versus DBE para a Classe O₂ de amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS.

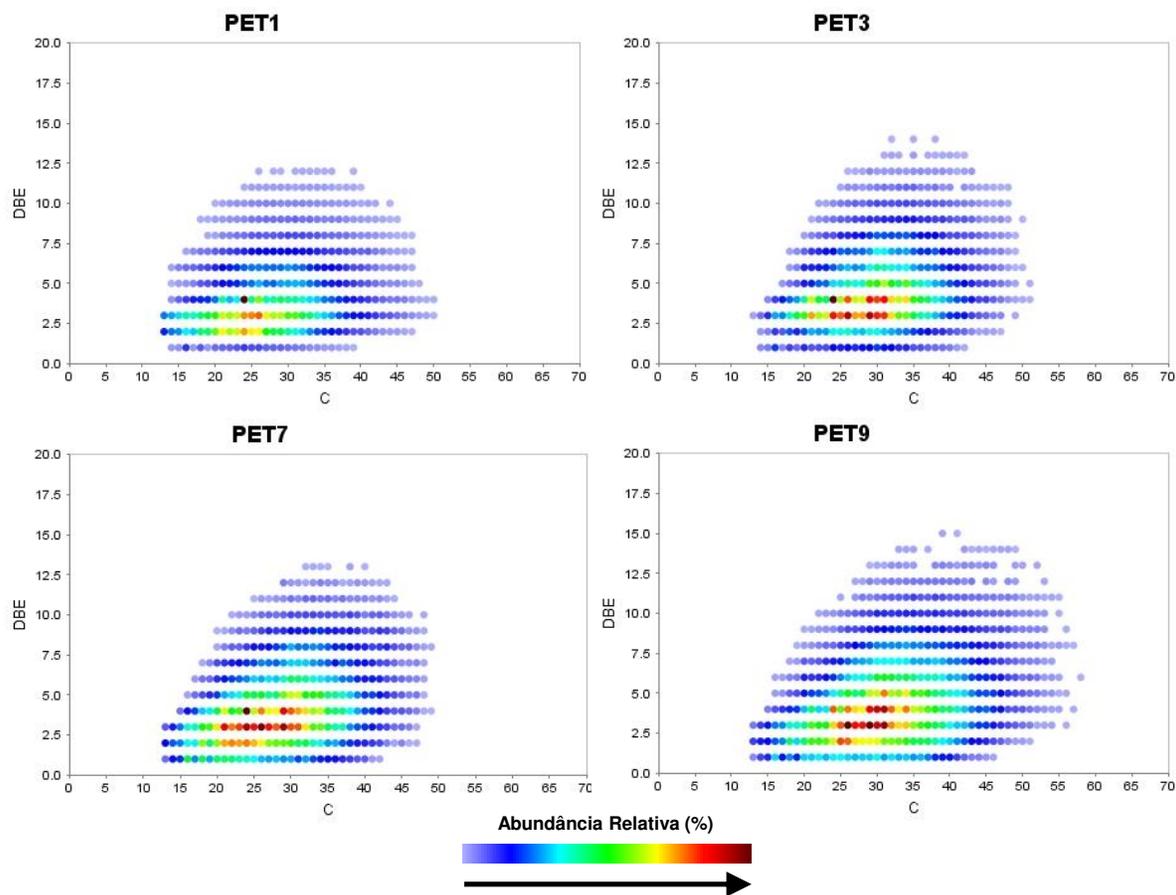


Figura 3.8. Distribuição do número de carbono versus DBE para a Classe O₂ de amostras de petróleo analisadas por ESI (-) FT-ICR MS.

3.5. CONCLUSÕES

FT-ICR MS fornece uma análise rápida e abrangente na caracterização de petróleo, dispensando pré-tratamentos ou pré-separações das amostras. Pode ser aplicada com vantagens em metodologias analíticas de rotina para análise de petróleo bruto e também dos seus derivados (não analisados neste trabalho). A técnica oferece respostas rápidas e indicações de parâmetros geoquímicos essenciais que auxiliam na otimização de processos de refino e exploração. As análises da Classe O₂ das amostras brutas de petróleo por FT-ICR MS substituem com sucesso as análises de frações ácidas efetuadas por FAB-MS, podendo ser implementadas como rotina no CENPES – PETROBRAS.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Corilo, Y.E. Tese de Doutorado. Instituto de Química UNICAMP **2011**, 92 p.

Headley, J.V.; Peru, K.M.; Barrow, M.P. *Mass Spectrometry Reviews* **2009**, *28*, 121-134.

Qian, K.; Edwards, K.E.; Dechert, G.J.; Jaffe, S.B.; Green, L.A.; Olmstead, W.N. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 849-855.

Olsen, S.D. *Report RF-Rogaland Research* **2002**, *197*, 1-28.

CAPÍTULO 4

Caracterização de Compostos Polares em Petróleo e Cortes de Destilação Utilizando Espectrometria de Massas por Tempo de Vôo de Altíssima Resolução

4.1. INTRODUÇÃO

Os perfis de compostos polares de petróleo e cortes de destilação têm mostrado várias características de “assinaturas moleculares” (Marshall e Rodgers, 2004, Rodgers *et al.* 2005; Marshall e Rodgers, 2008). Estes compostos estão diluídos nos hidrocarbonetos, representando uma fração minoritária que varia tipicamente de 5 – 10% da composição do petróleo (Altgelt e Boduszynski, 1994; Fu *et al.* 2006; Haddad *et al.* 2012). Estes compostos polares heterocíclicos (N, O, S) podem ser considerados a “memória” de cada petróleo e podem ser utilizados como marcadores no diagnóstico de parâmetros geoquímicos como tipo, origem, grau de biodegradação e evolução térmica (Marshall e Rodgers, 2004, Rodgers *et al.* 2005; Marshall e Rodgers, 2008; Hughey *et al.* 2002; Hughey *et al.* 2004; Klein *et al.* 2006). Estas moléculas polares também são problemáticas em relação a poluição, envenenamento de catalisadores, corrosão, formação de depósitos e emulsão durante a produção e processamento do petróleo, sendo removidas dos cortes de destilação por tratamentos químicos, extração e catálise (Marshall e Rodgers, 2004, Rodgers *et al.* 2005; Marshall e Rodgers, 2008; Hughey *et al.* 2002; Hughey *et al.* 2004; Klein *et al.* 2006; Mapolelo *et al.* 2009; Mapolelo *et al.* 2011).

O petróleo contém milhares de moléculas polares e sua análise apresenta desafios analíticos devido a sua alta complexidade. O grande avanço na análise de petróleo se deve ao desenvolvimento da ionização por *electrospray* (ESI) por Fenn e colaboradores (Fenn *et al.* 1989; Coelho e Eberlin, 2011), sendo uma técnica de ionização branda e eficaz para moléculas polares (Barrow *et al.* 2003). A análise direta por espectrometria de massas (MS) surgiu como solução possível na análise de amostras complexas (Zhan e Fenn, 2000), surgindo, desta maneira,

a área de petrolômica por MS (Marshall e Rodgers, 2004; Rodgers *et al.* 2005; Marshall e Rodgers, 2008). ESI é extremamente útil para a análise de compostos polares do petróleo, uma vez que a ionização ocorre geralmente através de espécies protonadas $[M + H]^+$ por ESI (+), ou moléculas desprotonadas $[M - H]^-$ por ESI (-). A **Figura 4.1** mostra alguns compostos polares característicos de amostras de petróleo.

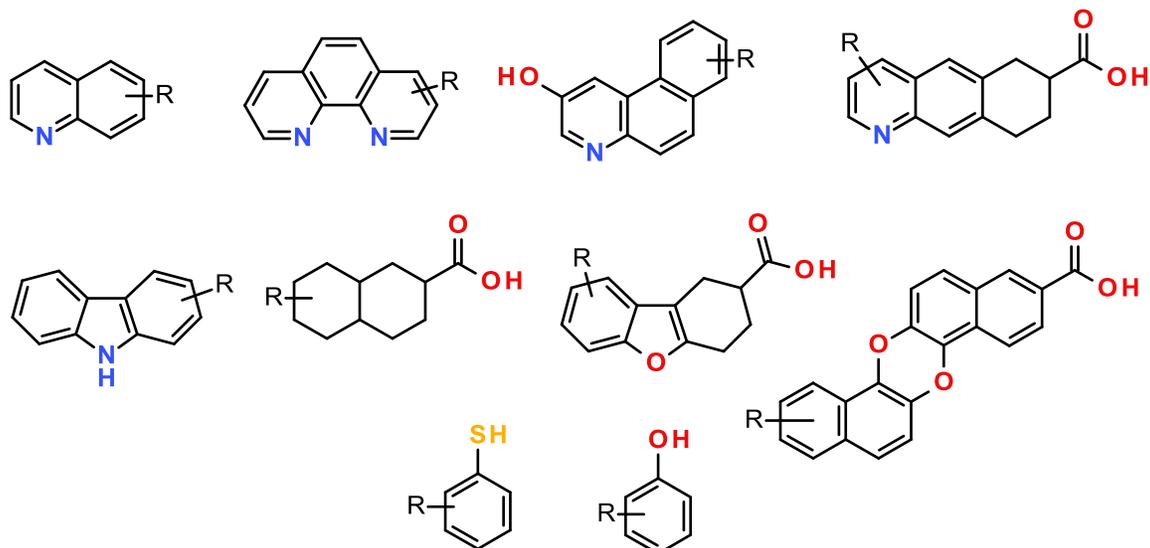


Figura 4.1. Exemplos de alguns compostos polares (N,S,O) presentes no petróleo ionizados por ESI.

Apesar desta relação simples “uma molécula – um íon” no ESI que gera espectros relativamente “limpos”, milhares de íons são produzidos devido ao alto número de componentes polares, com inúmeros interferentes isobáricos. Deste modo necessitam-se de analisadores de MS com altíssima resolução, exatidão e detectabilidade, indispensáveis para separar os marcadores polares em suas massas exatas, possibilitando a identificação das fórmulas moleculares corretas para determinar a classe de heteroátomo, os equivalentes de duplas ligações (DBE) e o número de carbonos.

Espectrômetros de massas por ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) com resolução de no mínimo 100.000 em m/z 400 (100.000@400) têm sido os únicos analisadores de massas capazes de

operar em altíssima resolução (poder de resolução = $(m/z) / (\Delta m/z)_{50\%}$) e com exatidão necessária para os estudos de petroleômica por MS (Marshall e Rodgers, 2004; Rodgers *et al.* 2005; Marshall e Rodgers, 2008). Entretanto, FT-ICR MS são espectrômetros caríssimos e de altíssimos custos de manutenção, devido o alto consumo de hélio e nitrogênio líquido. Recentemente o uso de FT MS do tipo Orbitrap operando com 100.000@400 de resolução foi sugerido como plataforma no estudo petroleômico como alternativa ao uso de FT-ICR MS (Pomeranz *et al.* 2011). Para aumentar a resolução do Orbitrap LTQ XL os autores operaram o equipamento sem apodização e adquiriram separadamente nove scans de janelas de 100 m/z que foram combinadas no espectro final. Este tipo de procedimento não é nada prático se pensar em um grande conjunto de amostras. O aumento de resolução aparente quando se remove a função de apodização piora em muito a relação sinal/ruído, uma vez que o sinal de m/z passa de uma distribuição Gaussiana para um sinal de distribuição Lorentziana (ver **Figura 4.2**).

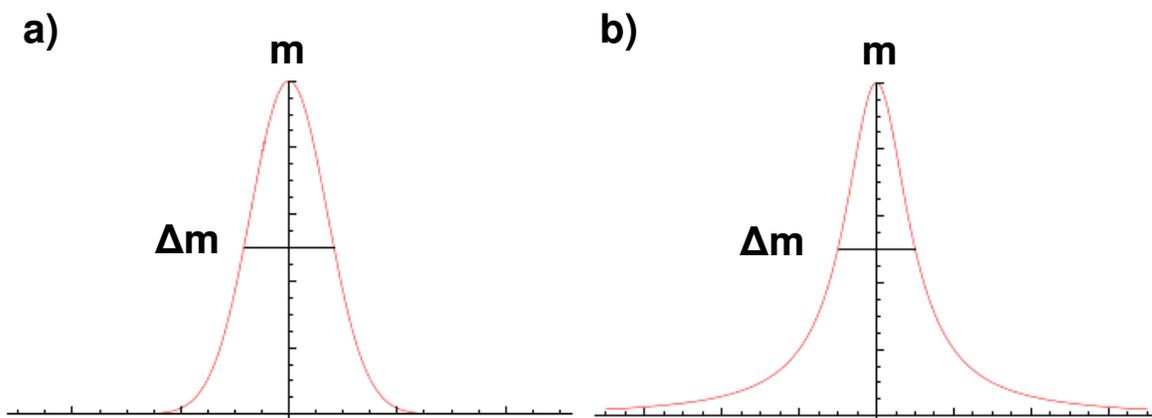


Figura 4.2. Efeito da distribuição de um sinal de m/z adquirido no modo contínuo (profile) e sua relação com o poder de resolução ($m / \Delta m_{50\%}$). **a)** Distribuição Gaussiana. **b)** Distribuição Lorentziana.

Em 2005 foi desenvolvido por Verentchikov e colaboradores (Verentchikov *et al.* 2005) um analisador de tempo de voo (TOF) com altíssima resolução (UHRT) que utiliza um TOF com multireflexão, no qual os íons percorrem trajetórias de zig-zag com perdas mínimas de transmissão. TOF são analisadores com alta relação custo benefício devido a alta velocidade, simplicidade e análise

de massas não discriminatória, com custos relativamente baixos (Guilhaus *et al.* 2000; Weickhardt *et al.* 1996; Cotter, 1997). Adicionalmente, ao contrário dos equipamentos FT-MS como ICR e Orbitrap onde a resolução diminui exponencialmente com o aumento de m/z , os TOF aumentam a resolução com o aumento de m/z , o que confere uma vantagem aos analisadores TOF. O analisador TOF operando no modo de altíssima resolução (UHRT) (100.000@400) mostra-se como uma plataforma alternativa atrativa para os estudos de petroleômica.

4.2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho consiste em explorar as possibilidades do UHRT para os estudos de petroleômica comparando o desempenho deste novo TOF comercial com um espectrômetro de massas FT-ICR de 7,2 T híbrido com *ion trap* linear, operado em resoluções variáveis (Corilo *et al.* 2010).

4.3. PARTE EXPERIMENTAL

Amostras de petróleo. As amostras de petróleo, fornecidas pelo CENPES – PETROBRAS, foram diluídas diretamente em tolueno-metanol 1:1 (v/v), sem aditivos, para uma concentração de $2,2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, e $0,7 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente para análise por UHRT MS e FT-ICR MS. A solução foi analisada por infusão direta na fonte de ESI operada nos modos positivo e negativo. Foram utilizados solventes grau HPLC, adquiridos da Sigma-Aldrich e utilizados sem prévia purificação.

Análise por UHRT MS. A **Figura 4.3** mostra o esquema do novo TOF que equipa o LC-HRT Citius™ (LECO Co., St. Joseph, MI USA). Este TOF utiliza a inovação de multi-reflectron onde os íons percorrem uma trajetória de vôo "dobrada" (*folded flight path*, FFP™) desenvolvido por Verentchikov *et al.* 2005. Os íons passam entre os espelhos (refletores de íons) e através de um arranjo de lentes de Einzel. A transmissão pelo FFP é maximizada pelo campo eletrostático

não linear dos refletores sem grade, onde os íons são constantemente refocalizados durante suas trajetórias de "zig-zag".

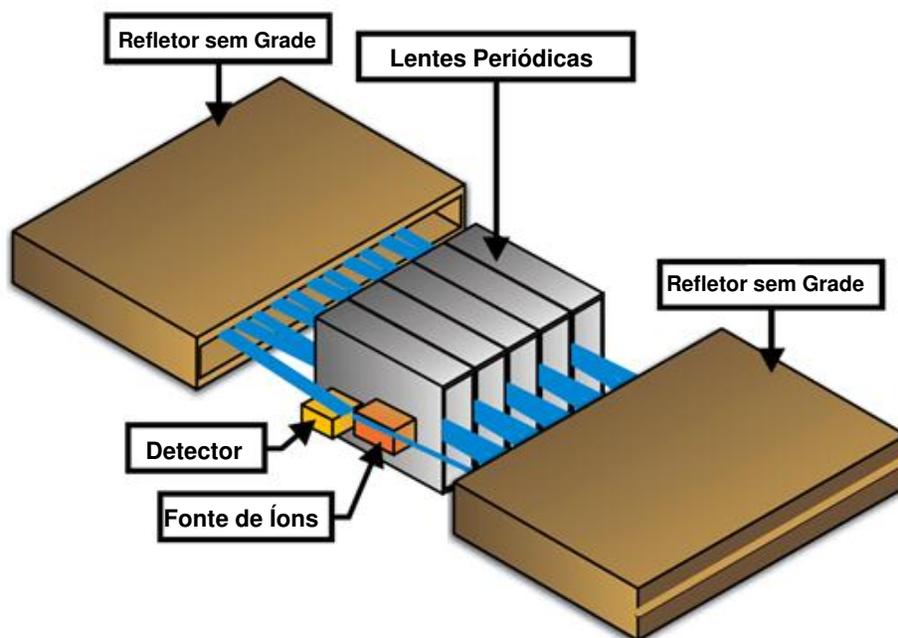


Figura 4.3. Esquema do analisador de TOF *folded flight path* (FFP™) que equipa o LC-HRT Citius™.

O LC-HRT Citius™ apresenta três percursos de "zig-zag", com 2 m para resolução unitária, com 20 m para alta resolução (50.000) e com 40 m para altíssima resolução (100.000). A **Figura 4.4** mostra os modos de operação possíveis. O LC-HRT Citius™ é capaz de análises com alta exatidão (erro abaixo de 1 ppm) e taxas de aquisição acima de 200 espectros/s. O sistema permite análise na faixa de 50 – 2500 m/z com resolução nominal e alta resolução. Para altíssima resolução opera em uma faixa de até 4:1 (por exemplo, 200 – 800 m/z ou 300 – 1200 m/z).

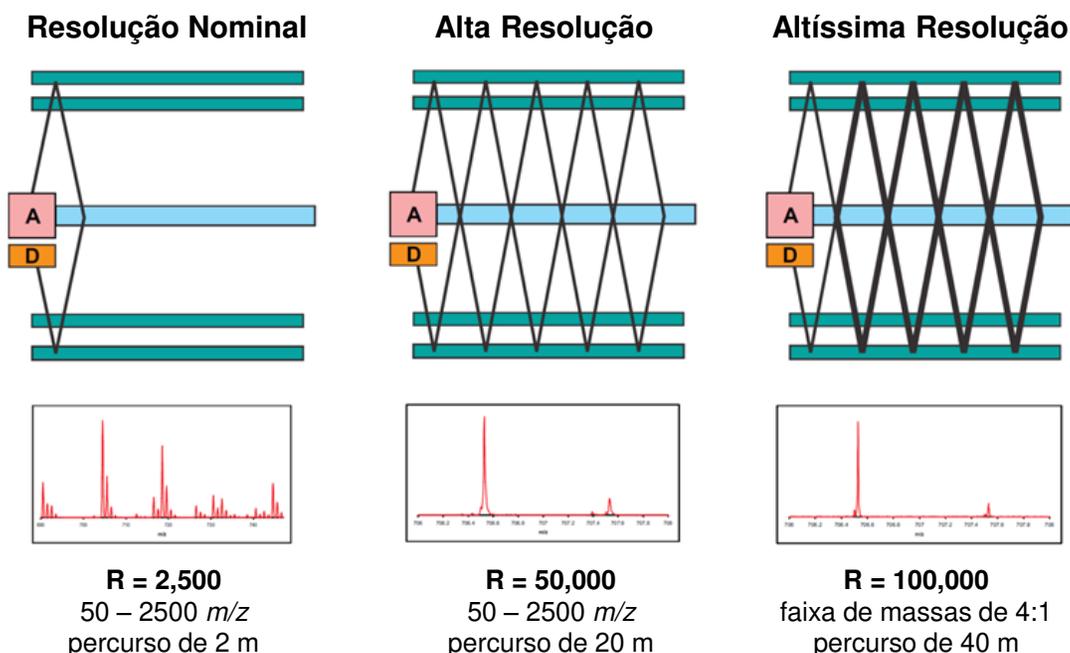


Figura 4.4. Modos de operação do LC-HRT Citius™ para a obtenção de resolução nominal, alta resolução e altíssima resolução. (A = acelerador e D = detector).

As amostras em solução foram infundidas diretamente na fonte ESI do LC-HRT Citius™ na vazão de $10 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A fonte de ESI foi operada com os seguintes parâmetros: potencial do *spray* 2,9 kV; potencial do *nozzle* 130 V; Q1 potencial DC 120 V; potencial do *skimmer* 60 V; pressão de nebulização 30 psi; vazão de dessolvatação de N_2 $7,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; temperatura de dessolvatação $900 \text{ }^\circ\text{C}$; e temperatura do *nozzle* de $125 \text{ }^\circ\text{C}$. No presente estudo, para assegurar uma cobertura de toda a faixa de m/z , realizamos dois *scans* por amostras que foram posteriormente combinados em um único espectro. Os espectros foram adquiridos de 150 – 600 m/z e 300 – 1050 m/z , combinados em um espectro final na faixa de 200 – 1000 m/z . Para a comparação do perfil de polares por ESI (+), das três amostras de petróleo foi utilizada apenas a faixa de 200 – 600 m/z . Esta faixa também foi utilizada para a análise das amostras de diesel tanto no modo positivo quanto no modo negativo. O espectro de massas final é o resultado do acúmulo de 100 *scans* com poder de resolução de 100.000, através do programa Chroma-TOF (LECO Co., St. Joseph, MI USA).

Análise por FT-ICR MS. As amostras em solução foram infundidas diretamente na fonte de ESI do espectrômetro de massas LTQ FT Ultra 7,2 T (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha) na vazão de $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A fonte de ESI foi operada nos seguintes parâmetros: potencial do *spray* 3.6 kV; potencial do capilar de transferência 40 V; potencial do *tube lens* 100 V; temperatura do capilar 280 °C. Os espectros foram adquiridos em 200 – 1000 *m/z*. com acúmulo de 100 *μscans* com resolução de 400.000@400 ($m/\Delta m$ em *m/z* 400) processados através do programa Xcalibur 2.0 (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha).

Processamento dos dados. Os espectros foram exportados como arquivos TXT contendo as razões *m/z* e as respectivas intensidades absolutas e processados no programa PetroMS 3.0 *Beta* desenvolvido no Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas (Corilo *et al.* 2010). Este programa de análise petroleômica permite a recalibração do espectro baseada na distribuição de séries homólogas conhecidas para petróleo e permite a atribuição de fórmula molecular, representação da abundância relativa das classes de heteroátomos, construção de gráficos como Diagramas de Kendrick e de van Krevelen, e Distribuição de DBE *versus* número de carbono.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Figura 4.5** mostra os espectros de ESI (+) para a amostra de Petróleo A adquirida por FT-ICR com resolução de 400.000@400 e por UHRT com resolução de 100.000@400. Ambos espectros apresentam distribuições similares para os marcadores polares. No entanto a distribuição obtida na análise por UHRT está deslocada para valores de *m/z* mais baixos. A razão para estas diferenças pode estar relacionada a parâmetros de *tuning*, diferenças na óptica de transferência dos íons e mesmo diferenças na detecção. No FT-ICR, utilizado neste trabalho, tem-se a população de íons gerada na fonte de ESI passa por uma série de guia de íons, é armazenada em um *ion trap* linear e então transferida para a cela de ICR através de um longo octapolo.

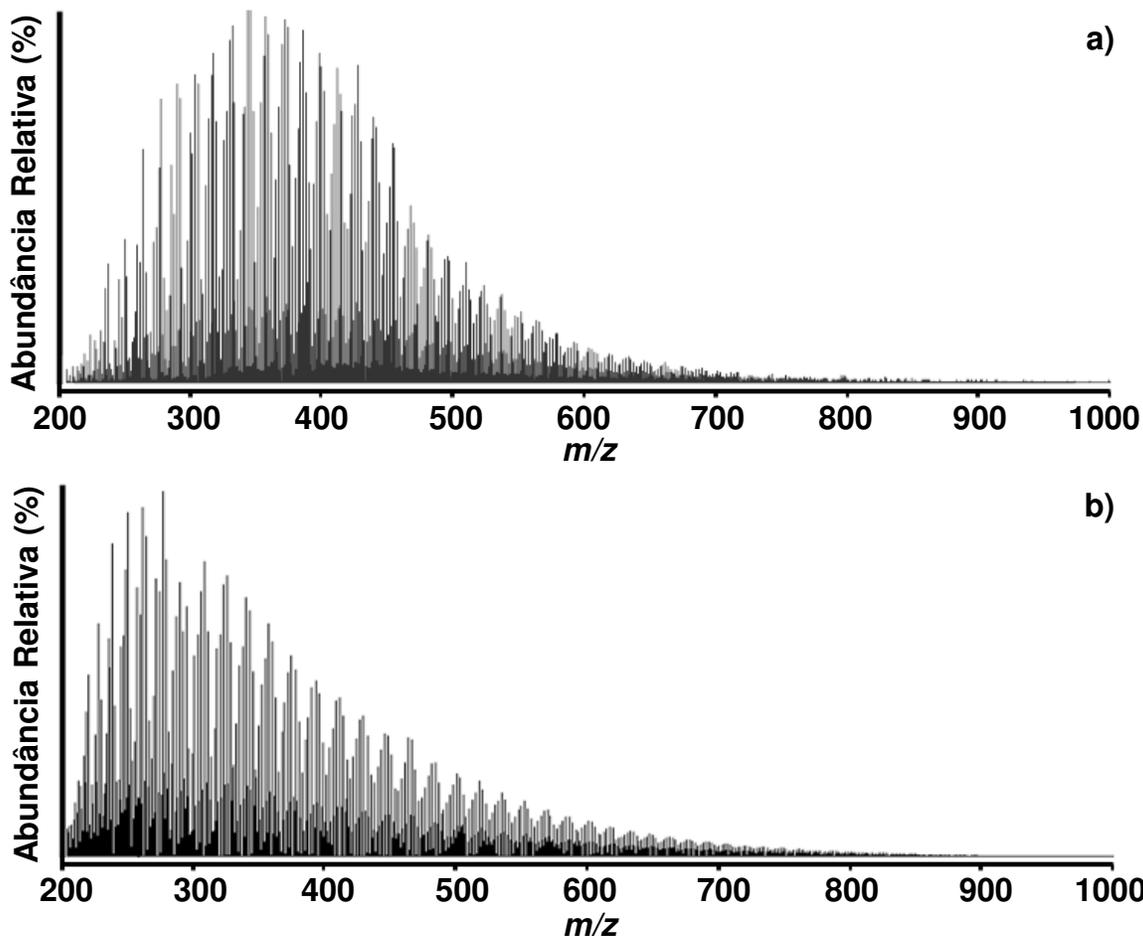


Figura 4.5. Espectros de ESI (+) característicos para a amostra de Petróleo A obtido por FT-ICR MS (a) e UHRT MS (b).

Durante esta transferência para a cela de ICR, que está inserida no magneto super condutor, ocorre um aumento do campo magnético que leva ao aumento das frequências magnetrônicas. Íons de m/z mais baixos podem colidir com o octapolo devido ao raio de oscilação maior que íons de m/z maiores, ocasionando uma diminuição da população destes íons. A cada *microscan*, o equipamento ajusta o tempo máximo de injeção dos íons, buscando obter um espectro com melhor distribuição. Para estudos petroleômicos a óptica dos íons do FT-ICR é otimizada para a obtenção da melhor transmissão e distribuição das massas como um todo, levando em conta a faixa de m/z de interesse. No caso do UHRT não temos essas estratégias de distribuição mais balanceada dos íons. Utilizam-se condições de *tuning* padrão, ou seja, as condições de operação normalmente

utilizadas, não são otimizadas para uma transmissão mais balanceada das milhares de espécies geradas por ESI. No entanto, estas condições poderiam ser alteradas através do uso de amostras de distribuição conhecidas, permitindo, desta forma, uma melhor comparação entre os resultados adquiridos em espectrômetros de massas de distintas configurações. Análises destas e de outras amostras de petróleo por Synapt HDMS Q-TOF (Waters, Manchester, UK) mostraram distribuições intermediárias entre os resultados de FT-ICR e UHRT, tendendo a distribuições mais similares com o UHRT. O sistema de UHRT apresenta uma óptica de íons mais simples que pode detectar uma distribuição mais real dos compostos polares criados pela ESI.

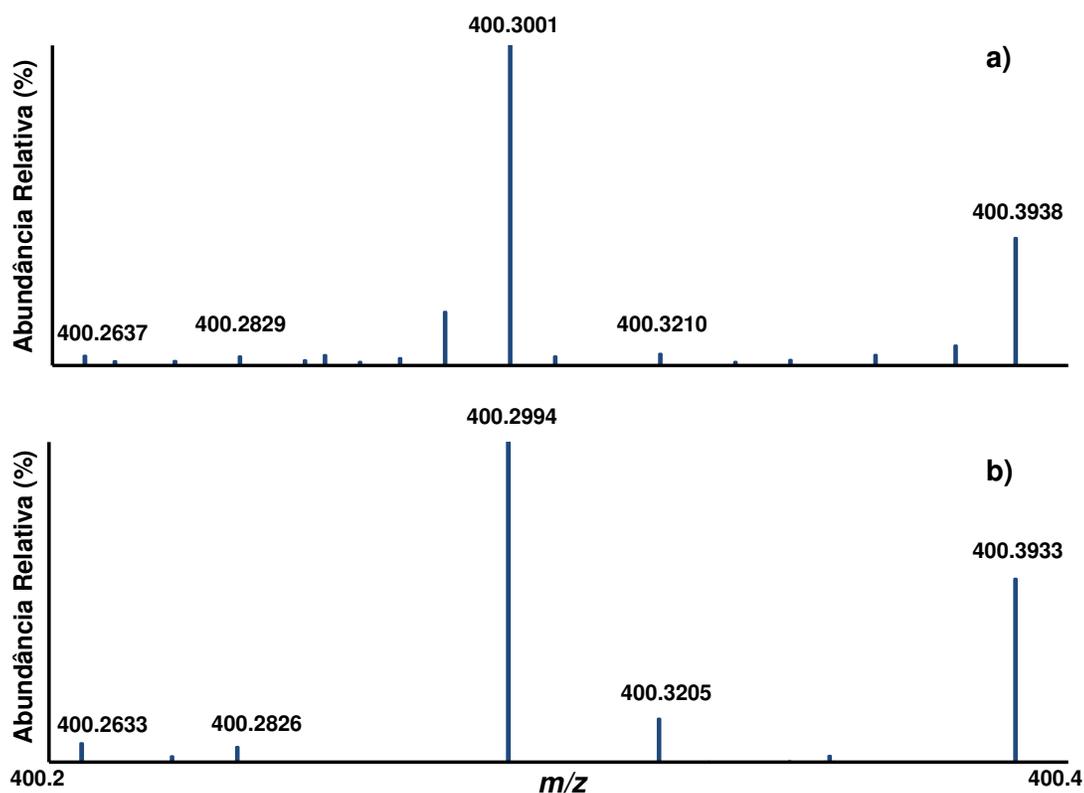


Figura 4.6. Expansão de 0,2 m/z em 400,2 – 400,4 m/z para a análise de ESI (+) da amostra de Petróleo A por **a)** FT-ICR MS (400.000@400) e **b)** UHRT MS (100.000@400).

A **Figura 4.6** representa uma expansão de 0,2 m/z dos espectros obtidos por ESI (+). Para maximizar a eficiência do UHRT os dados foram coletados no modo centróide o que melhora a exatidão de massa, além de diminuir o tamanho do arquivo de dados. No entanto os dados de resolução e de formato dos picos

foram mantidos. Pode-se observar que os sinais mais intensos são comuns em ambos os espectros, que possuem exatidão semelhante.

A **Figura 4.7** mostra uma expansão de 0,1 m/z para os espectros obtidos para a amostra de petróleo A por ESI (-). Pode-se observar um número consideravelmente maior de sinais em ambas expansões se comparadas com as expansões de 0,2 m/z da **Figura 4.6**. Como é esperado, ESI (-) fornece mais informações que ESI (+) por apresentar um maior número de classes de marcadores polares.

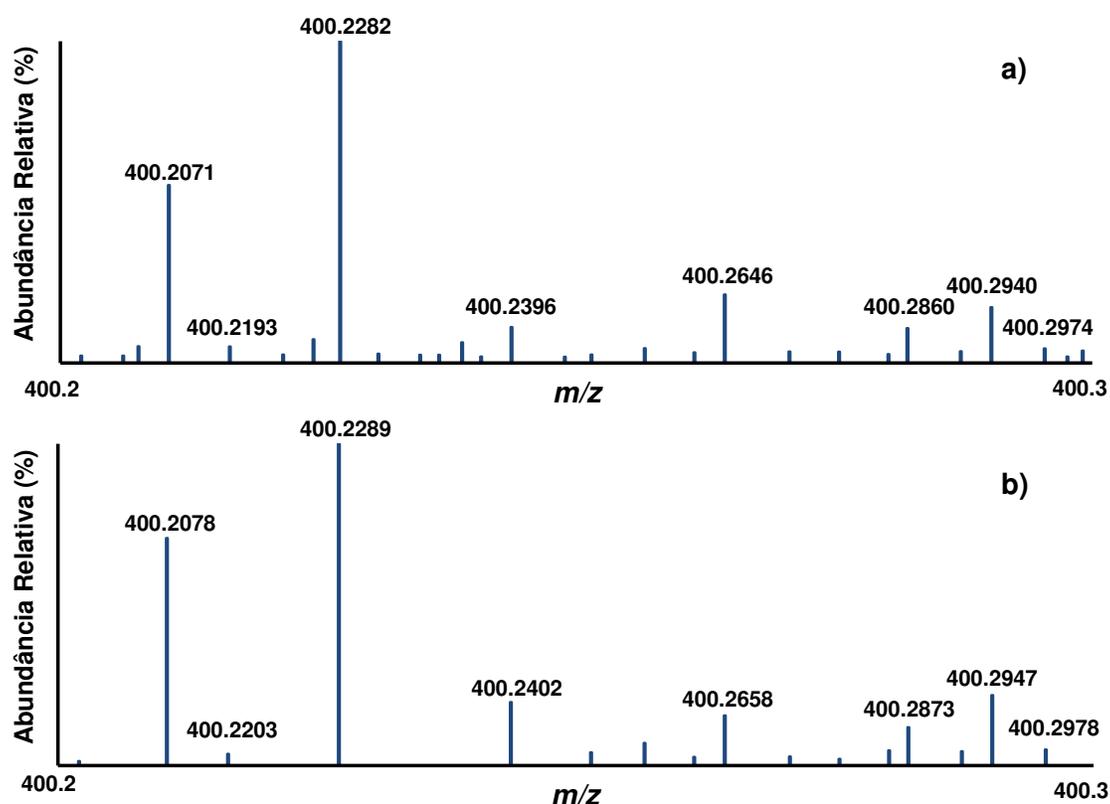


Figura 4.7. Expansão de 0,1 m/z em 400,2 – 400,3 m/z para a análise de ESI (-) da amostra de Petróleo A por **a)** FT-ICR MS (400.000@400) e **b)** UHRT MS (100.000@400).

Estes resultados indicam que apesar da resolução nesta faixa de m/z ser quatro vezes maior no FT-ICR MS que no UHRT, ambos analisadores são capazes de resolver um número semelhante de íons com exatidão semelhante.

Nos estudos de petroleômica por MS a resolução do pico e a exatidão da medida de m/z são indispensáveis para a identificação dos íons e atribuições

corretas das respectivas fórmulas elementares. A **Figura 4.8** mostra as diferenças de resolução ao longo da faixa de m/z obtidas com a análise por FT-ICR MS, operando nas resoluções de 100.000@400, 200.000@400 e 400.000@400, bem como a resolução obtida com a utilização do UHRT MS em 100.000@400. Pode-se observar a diminuição da resolução do ICR com o aumento de m/z , sendo intrínseca esta relação de diminuição da resolução com o aumento de m/z tanto para analisadores de ICR quanto para Orbitrap (Pomerantz *et al.* 2011).

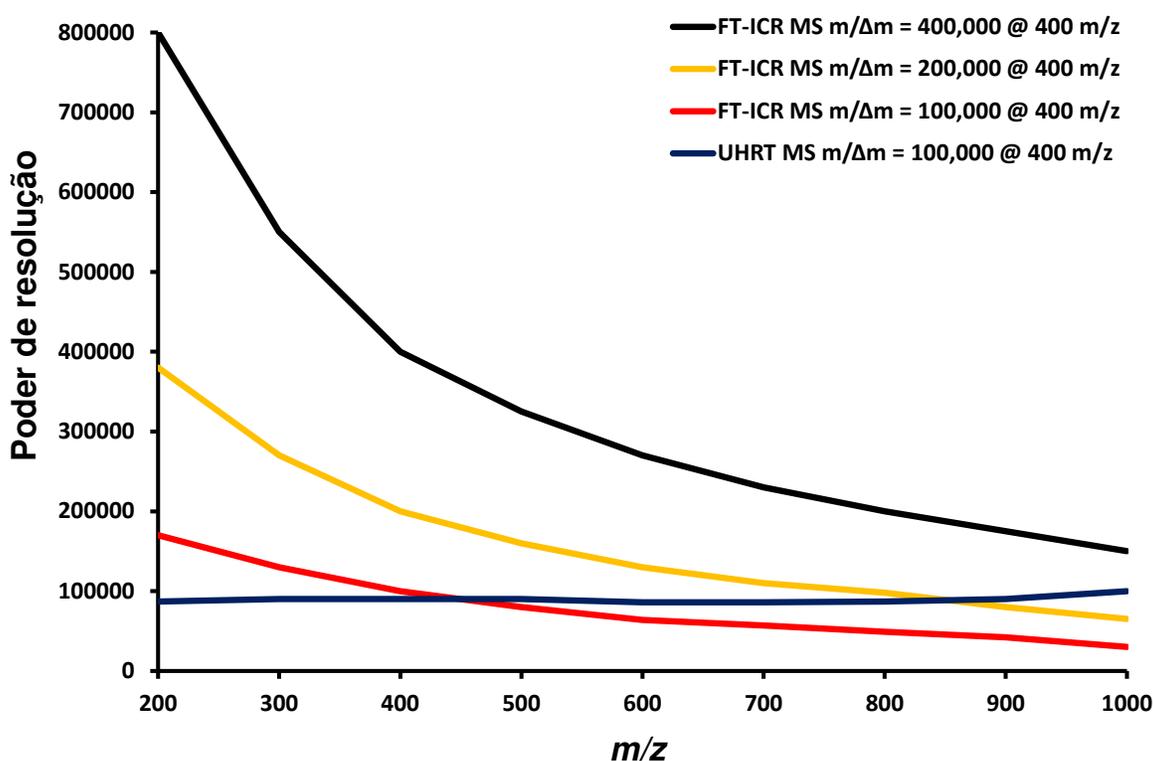


Figura 4.8 Variação do poder de resolução em função da m/z obtida na análise de amostras de petróleo por FT-ICR MS e UHRT MS utilizando os dados de ESI (+) para a classe N.

Para o UHRT tem-se um leve aumento da resolução que é de 90.000@200 e chega a 110.000@1.000. Na maioria da faixa de análise para estudos de petroleômica, o UHRT em 100.000@400 é superior ao FT-ICR em 100.000@400, chegando próximo ao FT-ICR em 200.000@400, acima de m/z 800 o UHRT mostra-se superior; representando uma resolução extraordinária para um analisador de TOF. A **Figura 4.9** mostra a resolução mínima necessária ($2m/\Delta m$)

para separar dubletos isobáricos. Na faixa de m/z normalmente utilizada para os estudos de petroleômica o UHRT não apresenta poder de resolução suficiente para discriminar a diferença de 3,4 mDa ($C_3 \times SH_4$) que necessita de uma resolução mínima de 118.000@200, chegando aproximadamente em 600.000@1000. Mesmo o FT-ICR operando em 400.000@400 não é capaz de diferenciar 3,4 mDa em m/z maiores que 500. O UHRT MS apresenta desempenho superior ao FT-ICR MS em 100.000@400, sendo útil para análises equivalentes ao FT-ICR MS com 200.000@400.

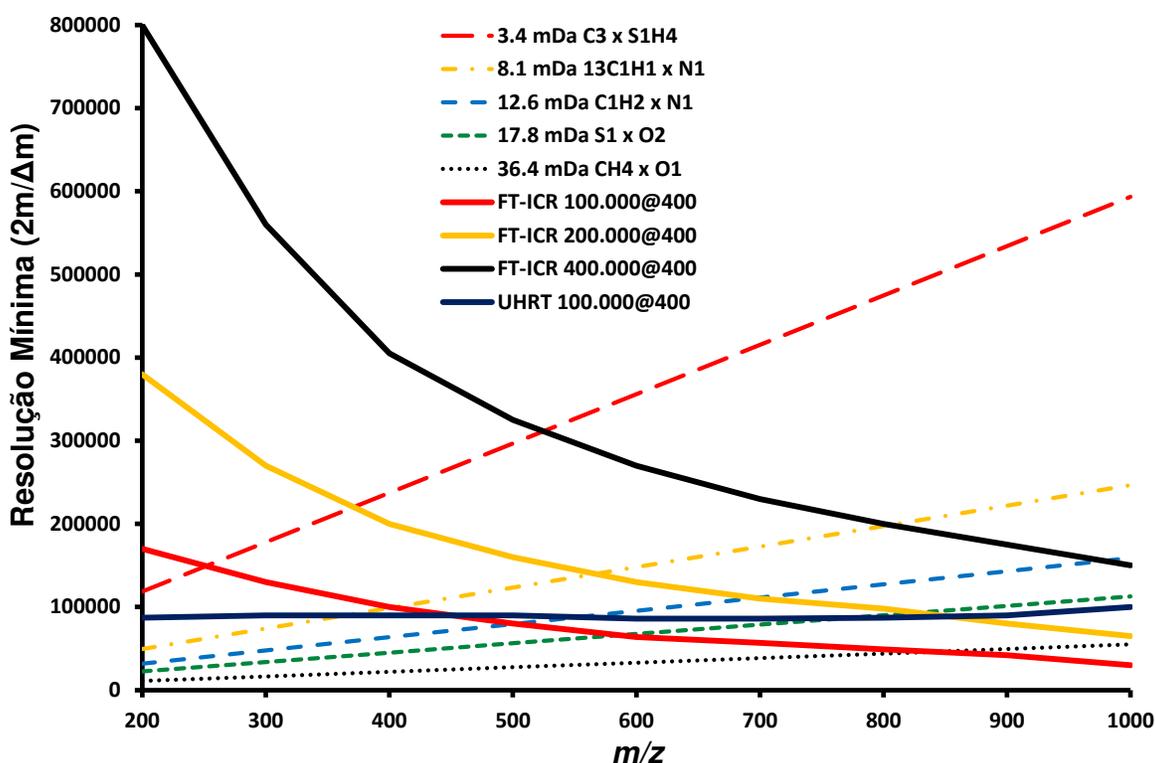


Figura 4.9. Poder de resolução do UHRT MS e do FT-ICR MS em relação a m/z e a resolução mínima ($2m/\Delta m$) necessária para diferenciação de alguns dubletos isobáricos.

Na **Figura 4.10** tem-se a comparação da exatidão de m/z após recalibração pelo PetroMS dos íons da classe N obtidos por ESI (+) pelo FT-ICR em 400.000@400 e UHRT em 100.000@400.

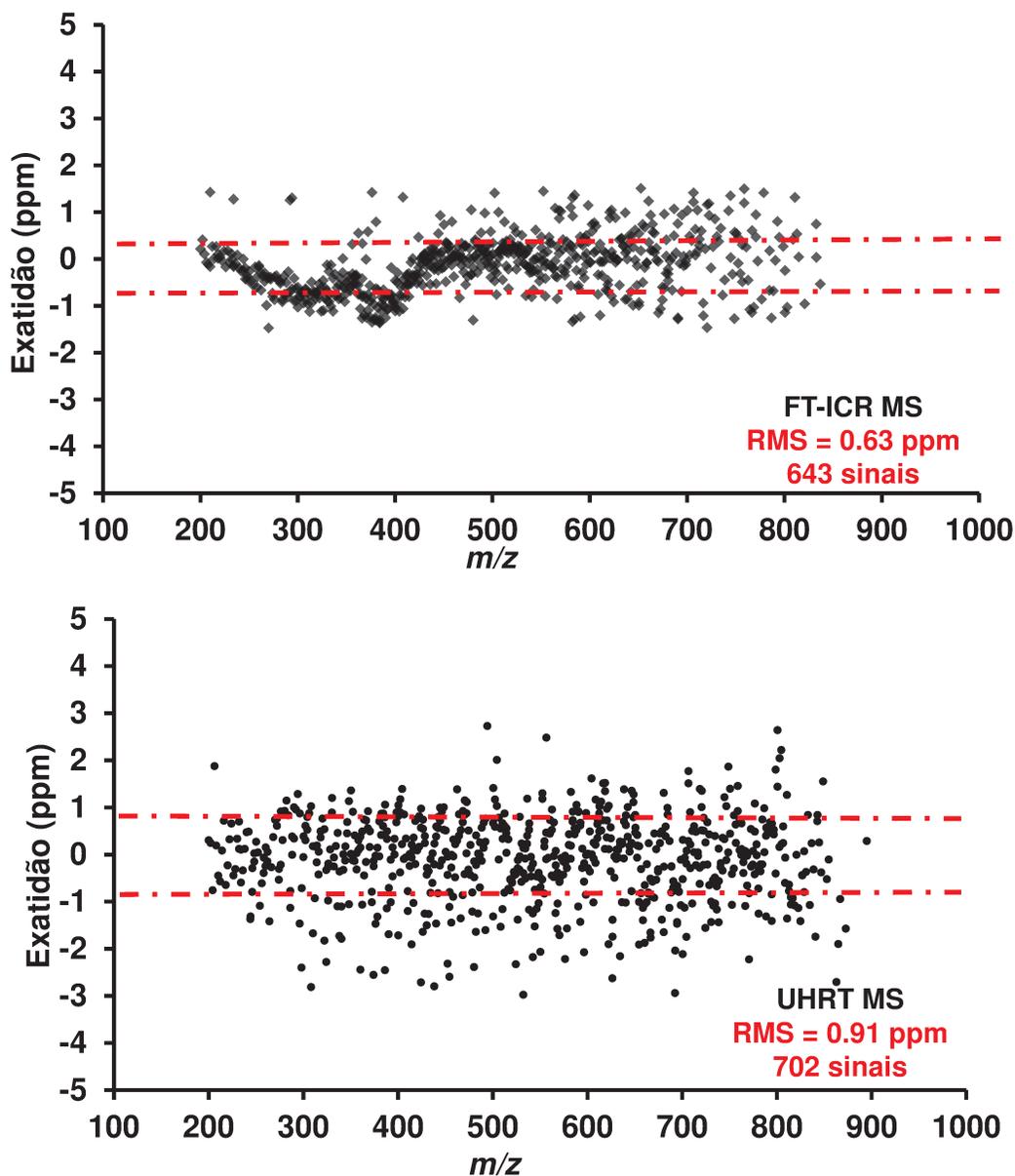


Figura 4.10. Exatidão para as medidas de m/z obtidas para a análise da amostra de Petróleo A por ESI (+) utilizando FT-ICR MS na resolução de 400.000@400 e UHRT MS na resolução de 100.000@400. Dados para a classe N após recalibração interna pelo PetroMS.

A exatidão do UHRT (0,91 ppm) é um pouco inferior da obtida por FT-ICR (0,63 ppm), podendo ser considerada excelente para estudos de petroleômica (erro inferior a 1 ppm) e suficiente para atribuição da maioria das classes de heteroátomos (Guan *et al.* 1996).

No modo ESI (+) o tratamento dos dados da amostra de Petróleo A utilizando o PetroMS, mostrou a classe N como a mais abundante, tanto por FT-ICR MS (76%) quanto por UHRT MS (96%), **Figura 4.11**. Foram identificados 978 sinais por FT-ICR MS e 786 sinais por UHRT MS. A classe NO não foi identificada por UHRT MS. As abundâncias relativas distintas para a classe N₂ podem ser explicadas pela diferença de 8,1 mDa entre os isotopólogos da classe N e a classe N₂ (¹³CHN x N₂). A análise por UHRT MS subestima a abundância da classe N₂ para distribuições de *m/z* acima de 400, pois é necessário um poder de resolução acima de 100.000 para diferenciar estes sinais.

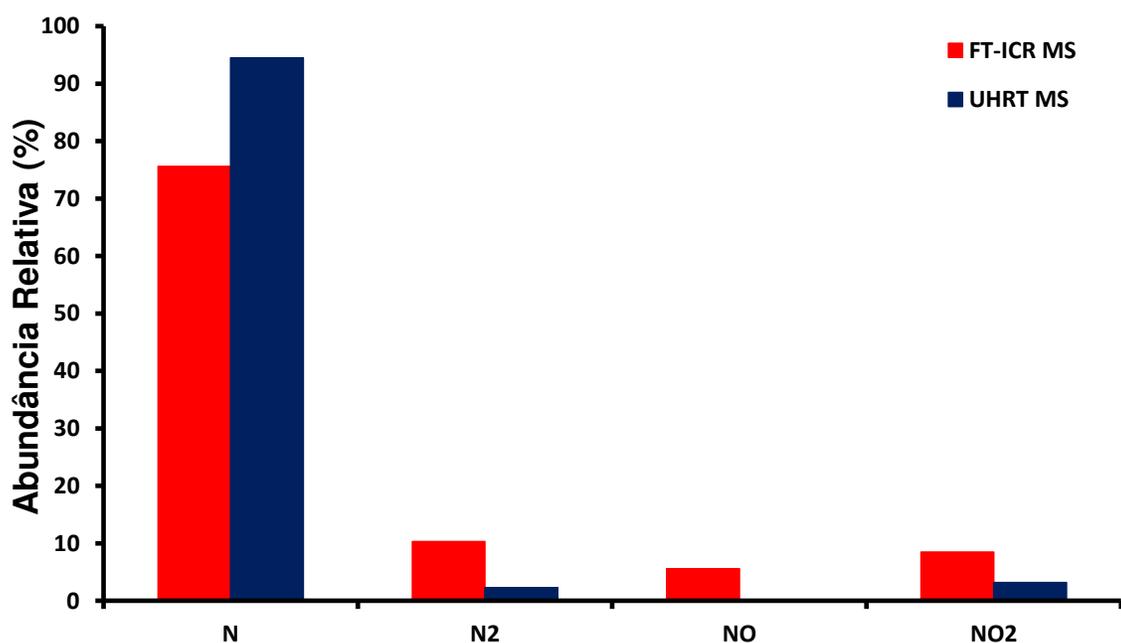


Figura 4.11. Distribuição relativa de classes de heteroátomos na amostra de Petróleo A identificadas por ESI (+) na faixa de 200 – 1000 *m/z* com FT-ICR MS e UHRT MS.

As **Figuras 4.12** e **4.13** comparam os diagramas de petroleoma característicos para avaliar propriedades geoquímicas do petróleo, distribuição do número de carbono vs DBE e o padrão de distribuição de DBE, para a classe majoritária N.

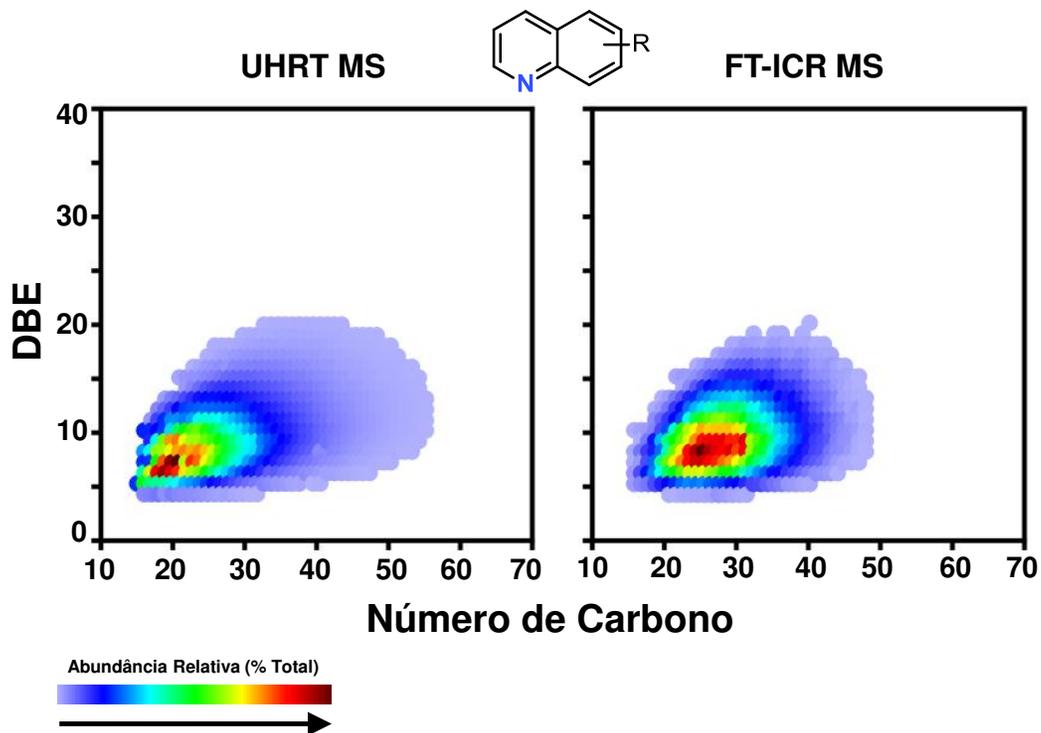


Figura 4.12. Diagrama de número de carbono vs DBE para a classe N observado por ESI (+) da amostra de Petróleo A utilizando UHRT MS e FT-ICR MS na faixa de 200 – 1000 *m/z*.

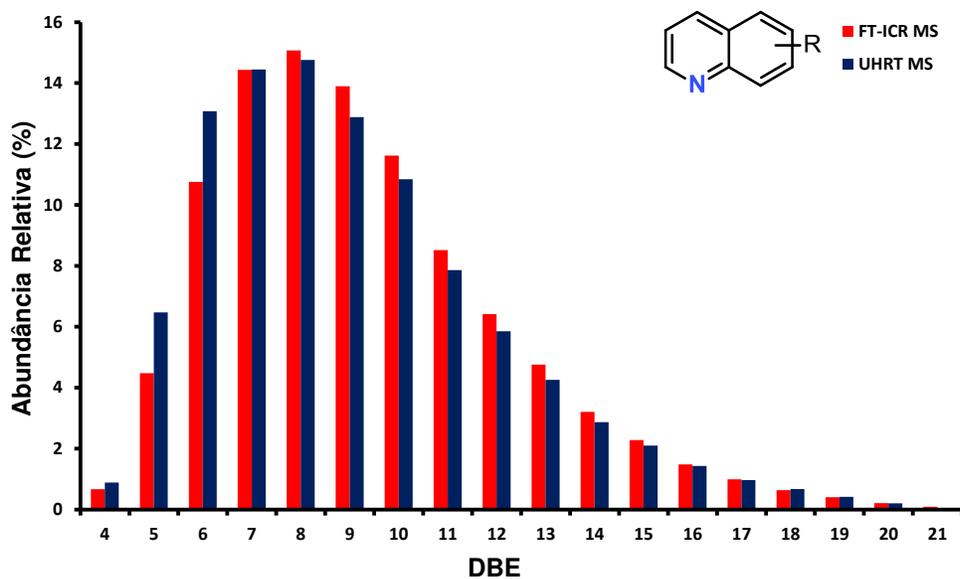


Figura 4.13. Distribuição de DBE para a classe N da amostra de Petróleo A por FT-ICR MS e UHRT MS por ESI (+) na faixa de 200 – 1000 *m/z*.

Estes diagramas são utilizados na avaliação, por exemplo, do nível de biodegradação e evolução térmica do petróleo (Hughey *et al.* 2002; Hughey *et al.* 2004; Klein *et al.* 2006; Marshall e Rodgers, 2008). Pode-se observar na **Figura 4.12** que as abundâncias relativas estão mais deslocadas para número menor de carbono no gráfico obtido pela análise por UHRT MS, o que é condizente com o espectro da **Figura 4.5**. Na **Figura 4.13** tem-se a distribuição relativa de DBE que também mostra um incremento de DBE mais baixas (4,5 e 6) na análise por UHRT MS em relação ao FT-ICR MS que pode ser devido a distribuição das intensidades relativas de m/z para massas mais baixas no UHRT. Apesar destas diferenças as distribuições de DBE são muito similares entre os dois equipamentos testados.

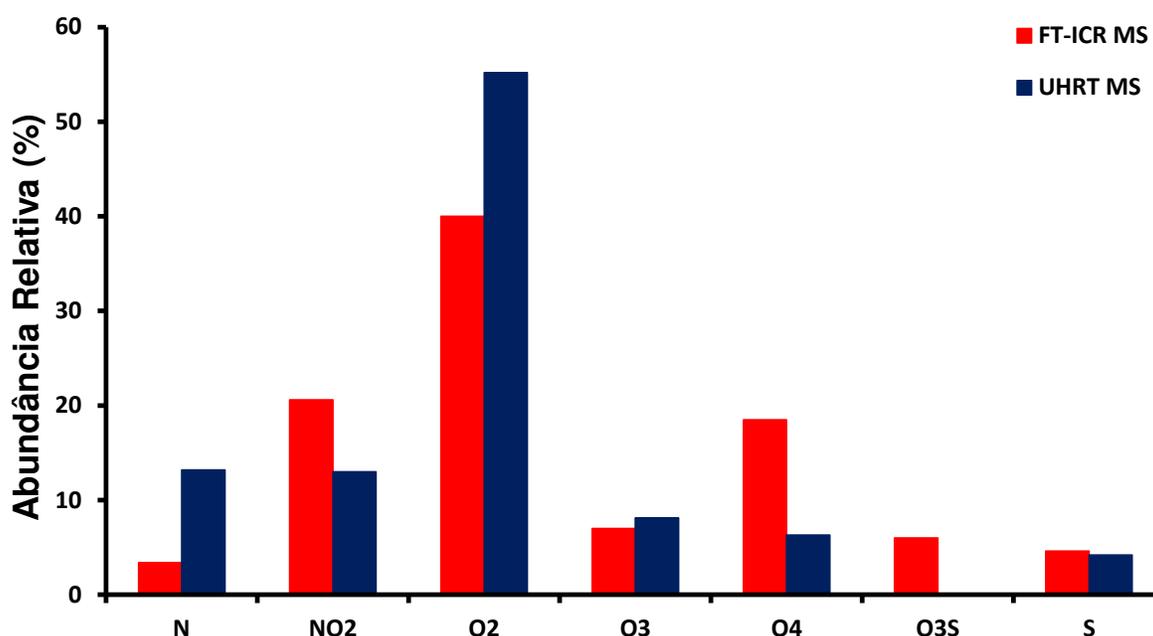


Figura 4.14. Distribuição relativa de classes de heteroátomos na amostra de Petróleo A identificadas por ESI (-) na faixa de 200 – 1000 m/z com FT-ICR MS e UHRT MS.

A **Figura 4.14** mostra os resultados obtidos para a distribuição de classes da amostra de petróleo A por ESI (-) para FT-ICR e UHRT. A análise por UHRT MS atribuiu 6 classes, enquanto que o FT-ICR MS encontrou 7 classes. A classe mais abundante encontrada para ambos espectrômetros de massas foi a classe O_2 . As diferenças nas intensidades relativas encontradas para a análise por FT-ICR e UHRT podem ser explicadas pela distribuição de ambos espectros de

massas. As classes NO_2 e O_4 apresentam uma distribuição de sinais de m/z acima de 400. Como o espectro adquirido por UHRT MS apresenta uma distribuição deslocada para a esquerda, estas classes acabam tendo distribuições relativas menores. A necessidade de um maior poder de resolução para maiores m/z de algumas classes também contribui para estes resultados de análise por UHRT MS.

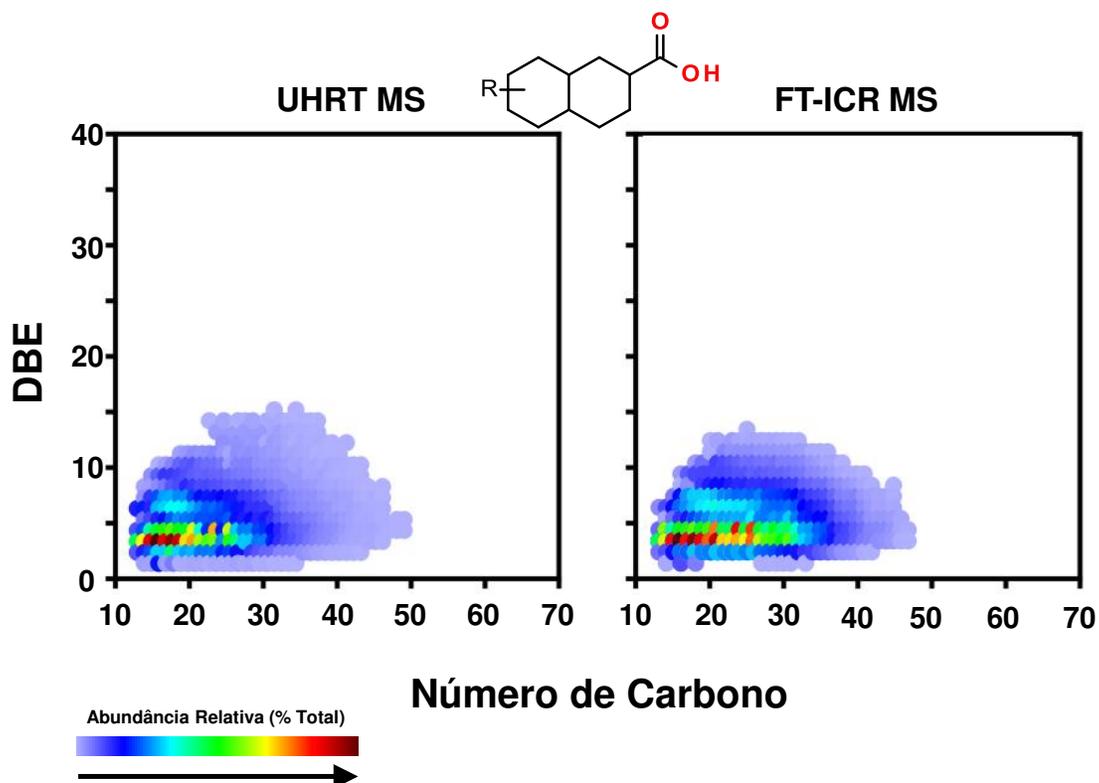


Figura 4.15. Diagrama de número de carbono vs DBE para a classe O_2 observado por ESI (-) da amostra de Petróleo A utilizando UHRT MS e FT-ICR MS na faixa de 200 – 1000 m/z .

As **Figuras 4.15 e 4.16** comparam os diagramas de distribuição do número de carbono vs DBE e o padrão de distribuição de DBE, para a classe O_2 identificada por ESI (-). Os resultados obtidos pelo UHRT em 100.000@400 são similares aos obtidos por FT-ICR em 400.000@400. Estas similaridades permitem o uso do UHRT MS para a caracterização do perfil da classe O_2 em amostras de petróleo. A caracterização da classe O_2 é importante para a indústria do petróleo,

dado que o preço do barril de óleo cru leva em conta o conteúdo ácido e propriedades como corrosão, formação de depósitos e formação de emulsões são devidas ao conteúdo de ácidos naftênicos (Mapolelo *et al.* 2009; Mapolelo *et al.* 2011; Barrow *et al.* 2003).

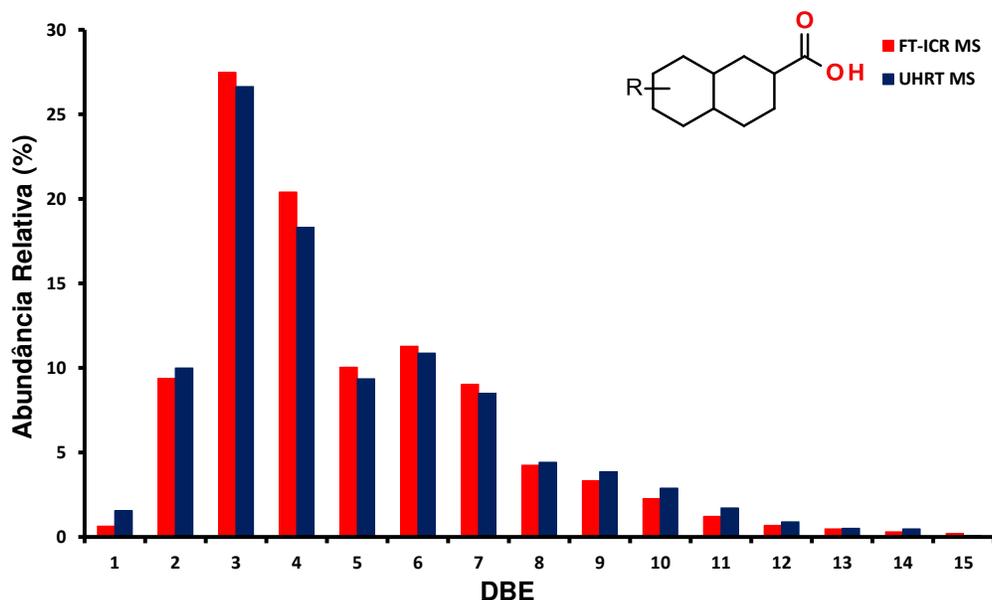


Figura 4.16. Distribuição de DBE para a classe O₂ da amostra de Petróleo A por FT-ICR MS e UHRT MS por ESI (-) e faixa de 200 – 1000 *m/z*.

Uma segunda amostra de Petróleo (B) também foi analisada para a comparação entre FT-ICR MS e UHRT MS. A **Figura 4.17** compara a distribuição relativa das classes de heteroátomos obtidas para a amostra B por ESI (+) e (-). Pode-se observar que as abundâncias relativas entre os resultados obtidos por FT-ICR MS e UHRT MS são semelhantes. No entanto, algumas classes minoritárias não foram detectadas pela análise com UHRT MS.

Estes resultados mostram a aplicação do UHRT com 100.000 de poder de resolução para analisar amostras de petróleos e sua utilidade na determinação da composição das classes de heteroátomos mais abundantes e os padrões de distribuição de DBE e número de carbonos dentro de cada classe de heteroátomo.

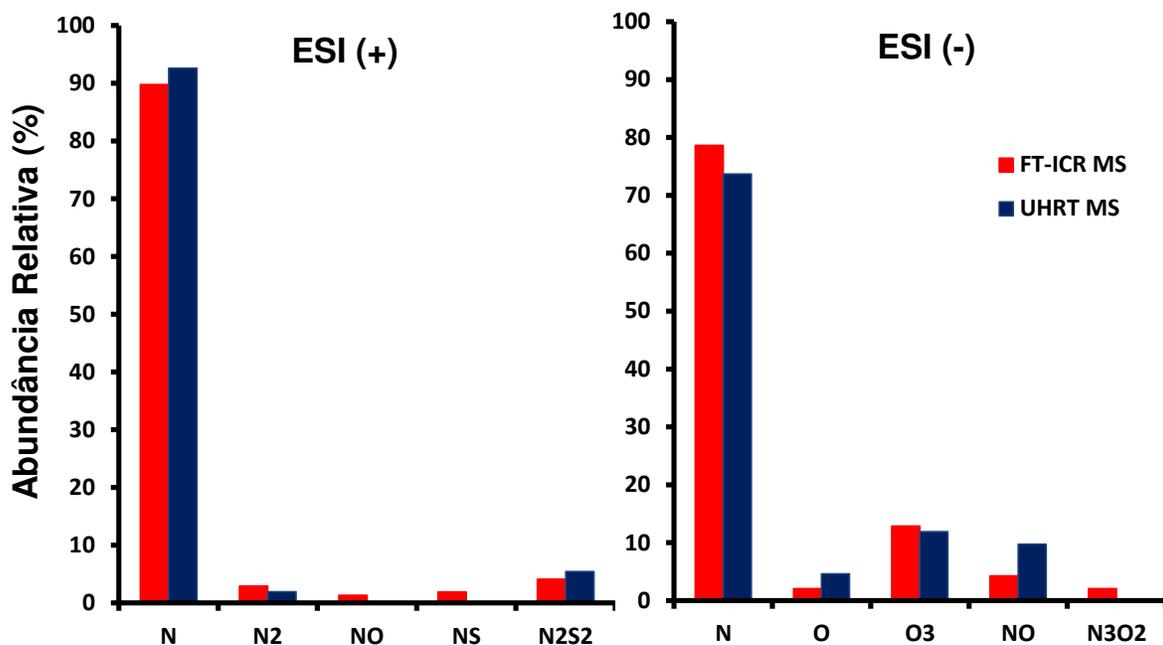


Figura 4.17. Distribuição de classes de heteroátomos obtidas pela análise por ESI (+) e ESI (-) da amostra de Petróleo B, através de FT-ICR MS em 400.000@400 e UHRT MS em 100.000@400 na faixa de 200-1000 m/z .

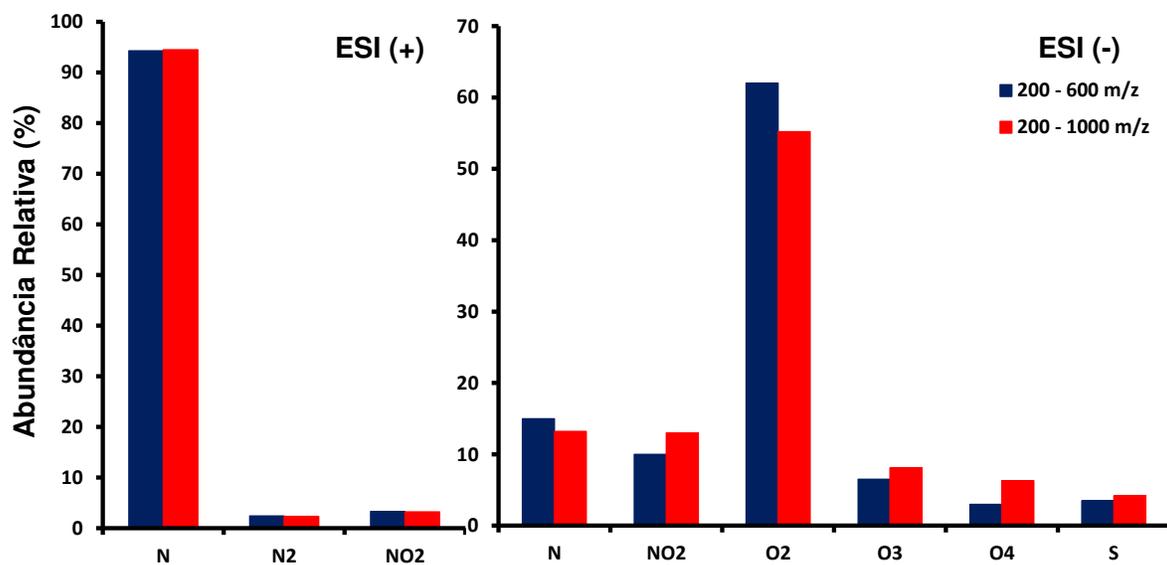


Figura 4.18. Comparação da distribuição das classes de heteroátomos no Petróleo A analisado por ESI (+) e ESI (-) UHRT MS nas faixas de 200-600 m/z e 200-1000 m/z .

Visando comparar o perfil de amostras distintas de petróleo, para mostrar a aplicação da análise por UHRT MS em petroleômica, analisamos três amostras (Petróleo 1, 2 e 3) por ESI (+) na faixa de 200 – 600 m/z e por ESI (-) na faixa de 200 – 1000 m/z . As análises por ESI (+) UHRT MS destas três amostras foram realizadas na faixa de 200 – 600 m/z , dado que praticamente não obtivemos variações nas abundâncias relativas das classes de heteroátomos quando comparamos os resultados das análises adquiridas nas duas faixas de m/z (200 - 600 e 200 - 1000) para a amostra de Petróleo A por ESI (+), **Figura 4.18**.

A **Figura 4.19** mostra a distribuição de classes de compostos polares por ESI (+) e ESI (-) para as três amostras analisadas. Pode-se notar que a classe N é a mais abundante por ESI (+) estando presente nas amostras com uma abundância relativa de 94 a 96%. Diferenças nas abundâncias das classes NO e NO₂ podem indicar níveis distintos de evolução térmica.

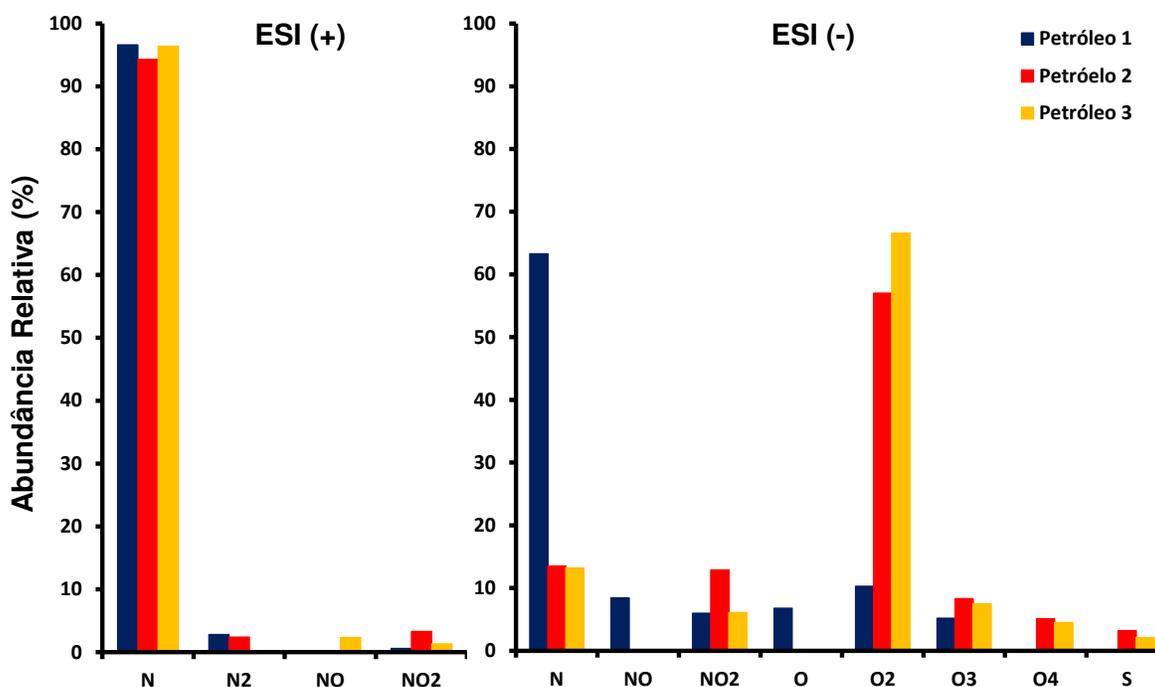


Figura 4.19. Distribuição das classes de heteroátomos para três amostras de petróleo analisadas por ESI (+) e ESI (-) UHRT MS.

Os resultados obtidos por ESI (-) mostram a classe O₂ como a classe mais abundante nas amostras de Petróleo 2 e 3. Estas amostras podem ter sofrido influência de biodegradação por conta deste alto conteúdo ácido. O Petróleo 1 apresenta um conteúdo de ácidos muito menor (~10%), sendo a classe N (alquil carbazóis e derivados) mais abundante.

A **Figura 4.20** compara a distribuição da classe N para as três amostras de petróleo analisadas. Pode-se notar que o Petróleo 3 apresenta uma abundância relativa significativamente maior para os nitrogenados com DBE maiores que 10, quando comparado com os petróleos 1 e 2.

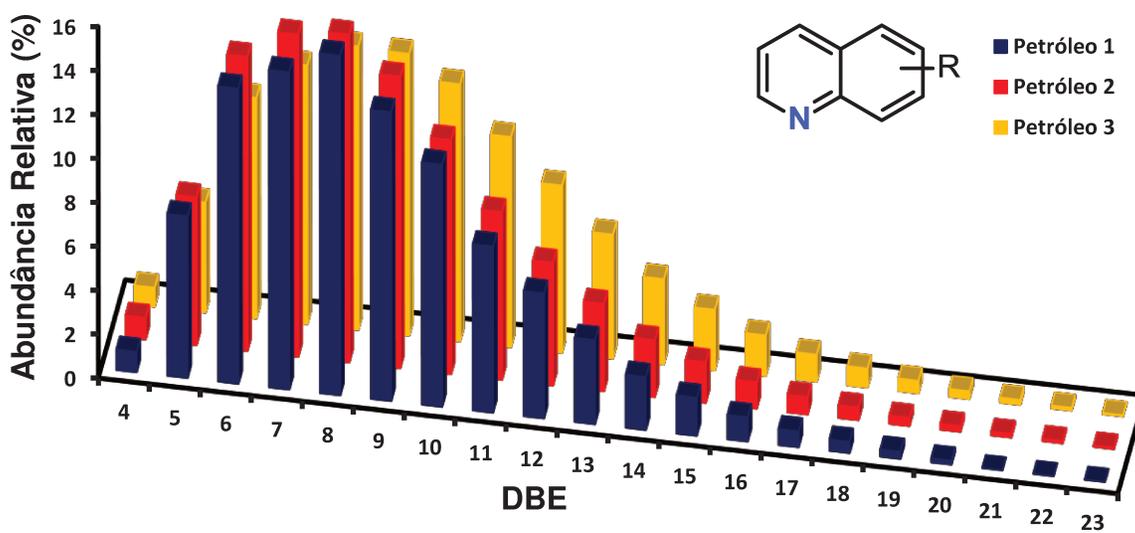


Figura 4.20. Distribuição de DBE para a classe N nas amostras de Petróleo 1, 2 e 3 por ESI (+) UHRT MS e faixa de 200 – 600 *m/z*.

A **Figura 4.21** mostra a distribuição de DBE da classe NO₂. O Petróleo 1 possui uma abundância menor desta classe se comparada com as amostras 2 e 3 (**Figura 4.19**), no entanto apresenta uma distribuição de DBE até 23. O Petróleo 2 apresenta uma distribuição um pouco mais ampla que as outras amostras, sendo os compostos de NO₂ de DBE mais baixos os mais abundantes. O Petróleo 3 apresenta uma distribuição mais restrita de DBE (7 a 14). Estas diferenças de

abundância da classe NO₂ e suas distribuições de DBE podem refletir variações de parâmetros do petróleo, como por exemplo, grau de evolução térmica. Petróleos de maior evolução térmica teriam menor abundância relativa das classes NO e NO₂ devido a eliminação dos grupos O e O₂ promovidos pelo aumento da temperatura. Também é esperado um maior grau de aromaticidade (aumento de DBE) por conta do aumento da temperatura de acordo com o nível de evolução térmica.

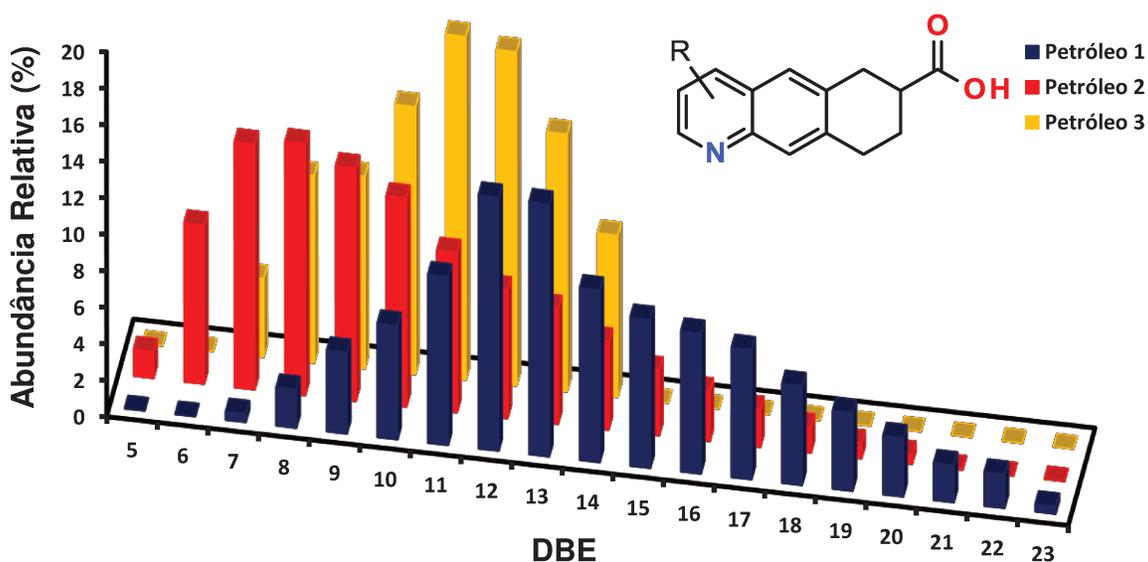


Figure 4.21. Distribuição de DBE para a classe NO₂ obtida por ESI (+) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 600 *m/z*.

A **Figura 4.22** mostra a distribuição de DBE da classe O₂ para estas três amostras. As amostras de Petróleo 2 e 3 apresentaram um maior conteúdo de ácidos naftênicos, que pode ser indicativo de níveis maiores de biodegradação. O Petróleo 1 apresenta baixa abundância da classe O₂ (ver **Figura 4.19**), com predomínio de baixos DBE. A baixa abundância relativa da classe O₂ pode ser devida ao maior grau de evolução térmica, que promoveu a decarboxilação destes ácidos. Esta hipótese também é suportada pelos resultados obtidos por ESI (+) que mostram uma redução da classe NO₂. A abundância elevada de ácidos de DBE 1 e 2 no Petróleo 1 pode indicar um processo de biodegradação posterior à evolução térmica.

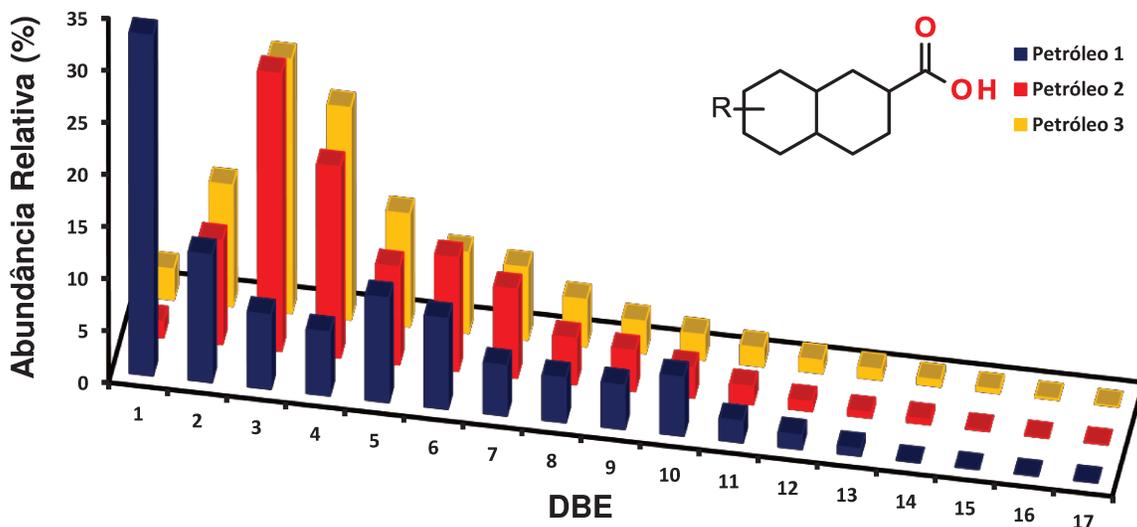


Figura 4.22. Distribuição de DBE para a classe O_2 obtida por ESI (-) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 1000 m/z .

A **Figura 4.23** mostra a distribuição de DBE para a classe N obtida por ESI (-). Esta classe é composta por nitrogenados neutros (pirróis, indóis e carbazóis). Nas três amostras tem-se uma abundância mais elevada de compostos de DBE 9, 12 e 15, respectivamente carbazóis, benzocarbazóis e dibenzocarbazóis.

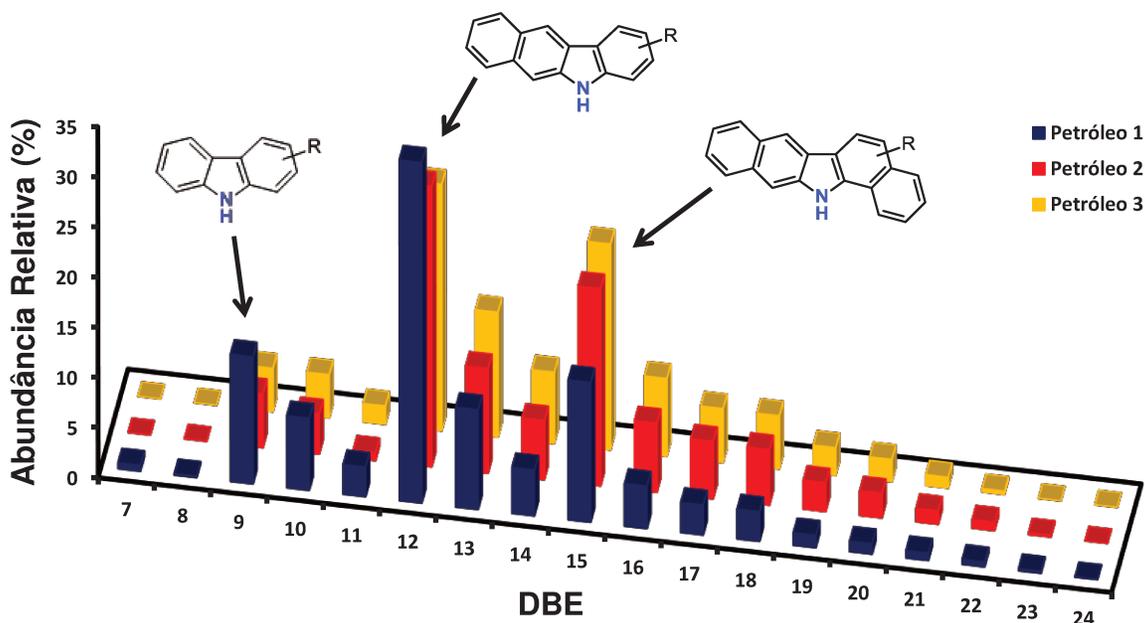


Figura 4.23. Distribuição de DBE para a classe N obtida por ESI (-) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 1000 m/z .

Na **Figura 4.24** tem-se representada a distribuição de DBE para a classe NO_2 nas três amostras de petróleo analisadas por ESI (-), possuindo o Petróleo 1 uma composição de DBE mais baixos que o Petróleo 3. Sendo o Petróleo 2 de distribuição de DBE mais ampla.

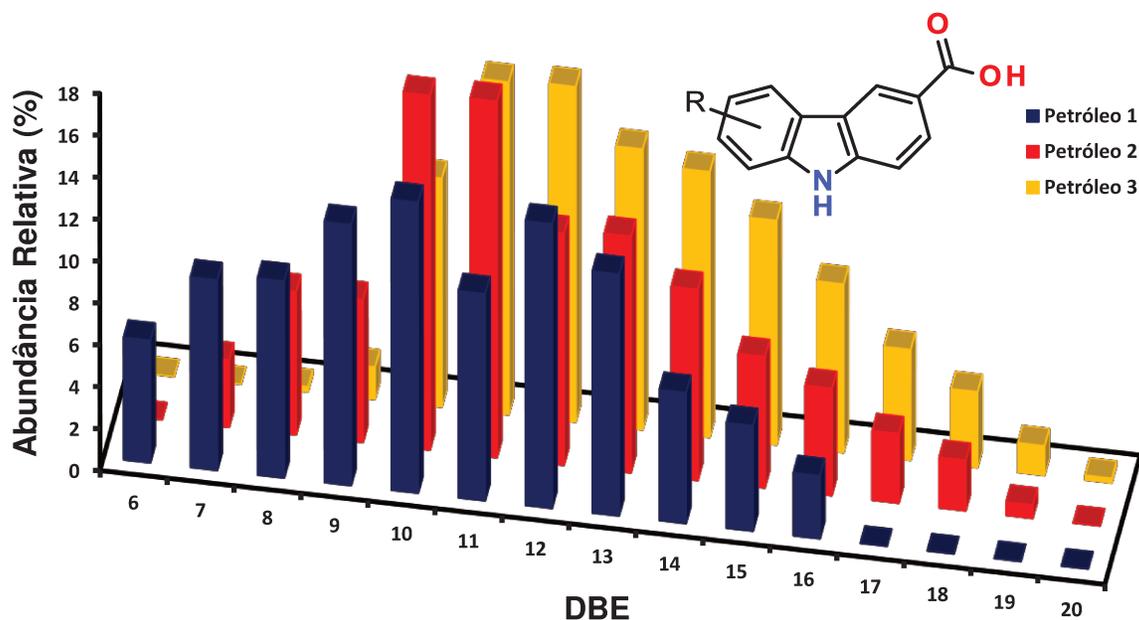


Figura 4.24. Distribuição de DBE para a classe NO_2 obtida por ESI (-) UHRT MS para três amostras de petróleo analisadas na faixa de 200 – 1000 m/z .

Os resultados apresentados mostram a utilidade da análise por UHRT MS com poder de resolução de 100.000 na caracterização das classes polares mais abundantes nas amostras de petróleo estudadas.

Também foram analisadas por UHRT MS duas amostras de diesel com o intuito de comparar a distribuição dos compostos polares caracterizados por ESI (+) e ESI (-). Na **Figura 4.25** tem-se o espectro típico para a amostra de diesel.

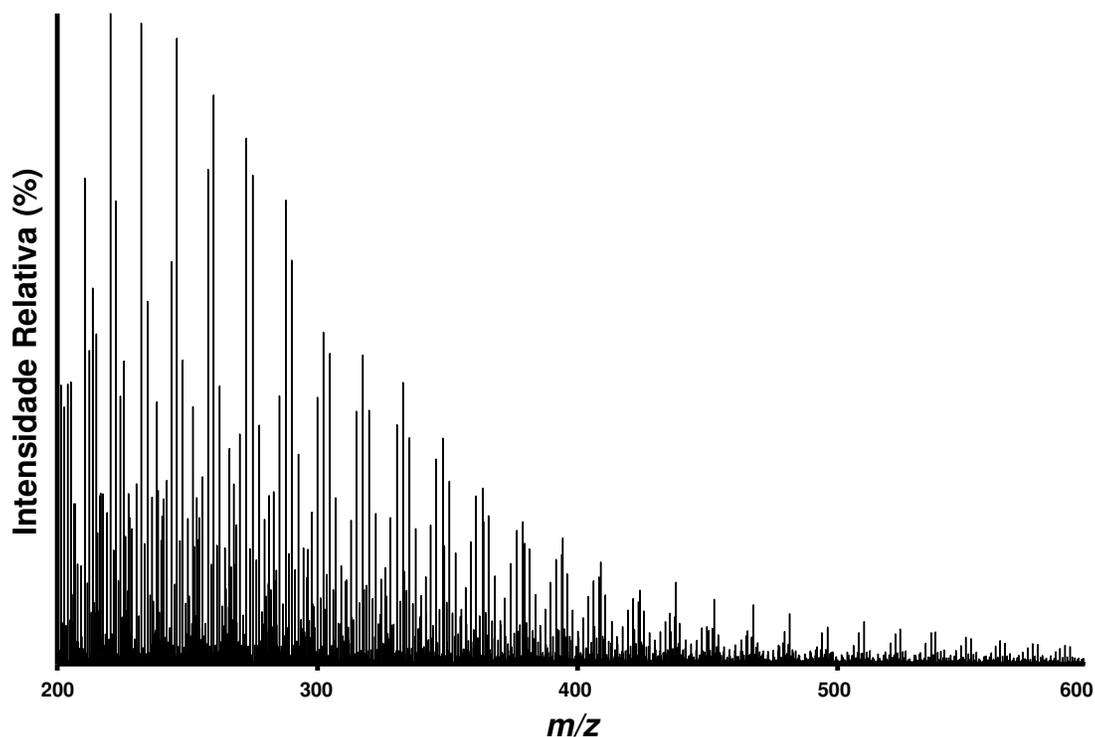


Figura 4.25. Espectro de ESI (+) UHRT MS característico para a amostra de diesel adquirida na faixa de 200-600 m/z .

A **Figura 4.26** mostra a distribuição da classe N, analisada por ESI (+) UHRT MS para as duas amostras de diesel, em relação à distribuição de DBE (**a**) e número de carbono (**b**). Pode-se perceber uma distribuição de DBE (variando de 4 a 14) muito semelhante entre as duas amostras, com pequenas diferenças na abundância relativa para os DBE mais baixos (4, 5 e 6). A distribuição de número de carbono também é muito semelhante entre as amostras. As maiores diferenças de distribuição ocorrem para os nitrogenados com 14 e 16 carbonos. O Diesel 2 não apresenta compostos nitrogenados com 14 carbonos, possuindo uma abundância maior de compostos com 16 carbonos.

A **Figura 4.27** compara a distribuição da classe O_2 para estas duas amostras de diesel. Pode-se observar que o Diesel 1 apresenta maior conteúdo de ácidos naftênicos de DBE 2, 3 e 4, enquanto o Diesel 2 apresenta uma abundância maior de ácidos poliaromáticos de DBE 8 a 13, sendo a distribuição de carbono da classe O_2 muito semelhante nestas duas amostras.

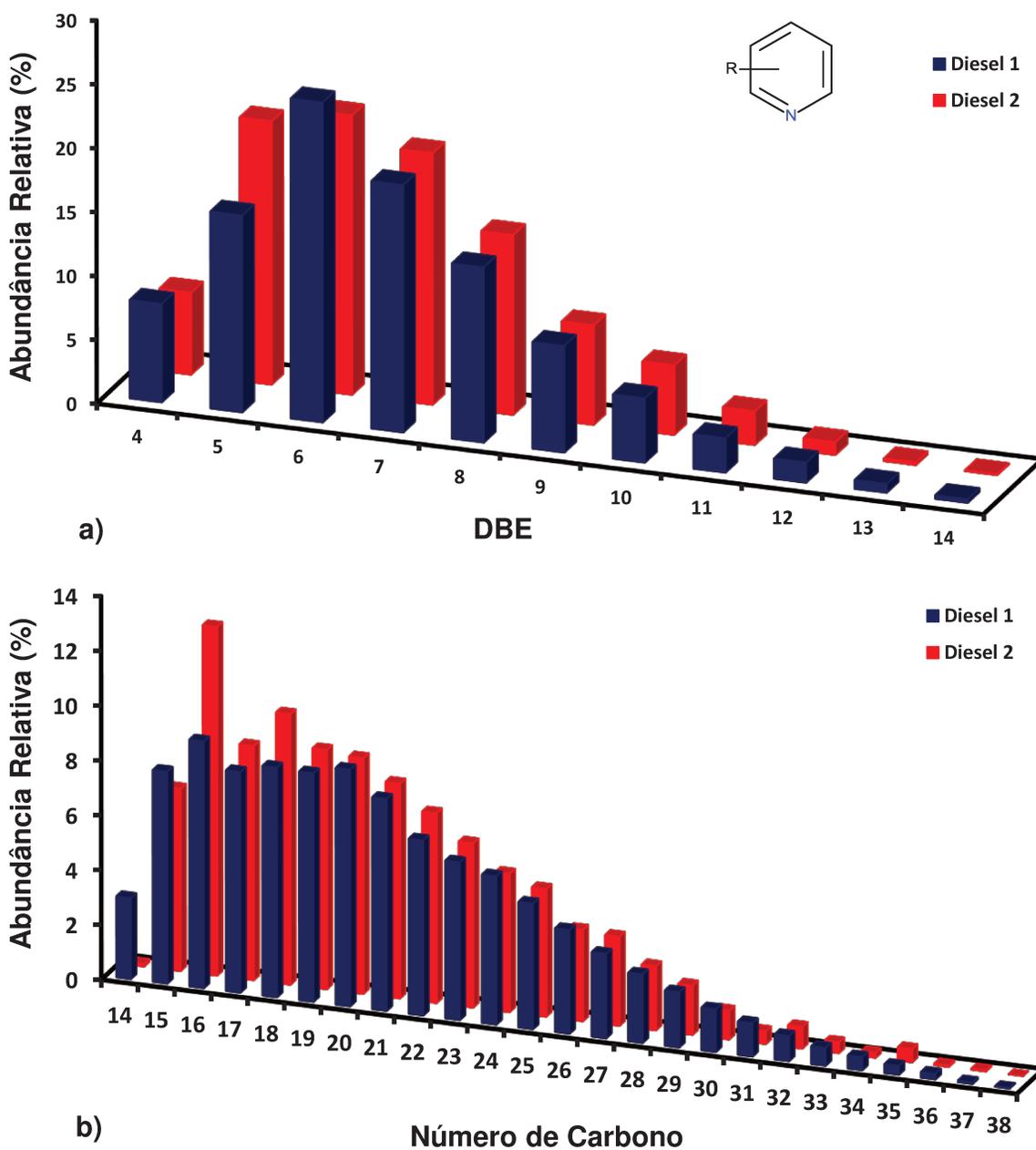


Figura 4.26. Distribuição da classe N para duas amostras de diesel analisadas por ESI (+) UHRT MS na faixa de 200-600 m/z . **a)** Distribuição relativa de DBE. **b)** Distribuição relativa de número de carbono.

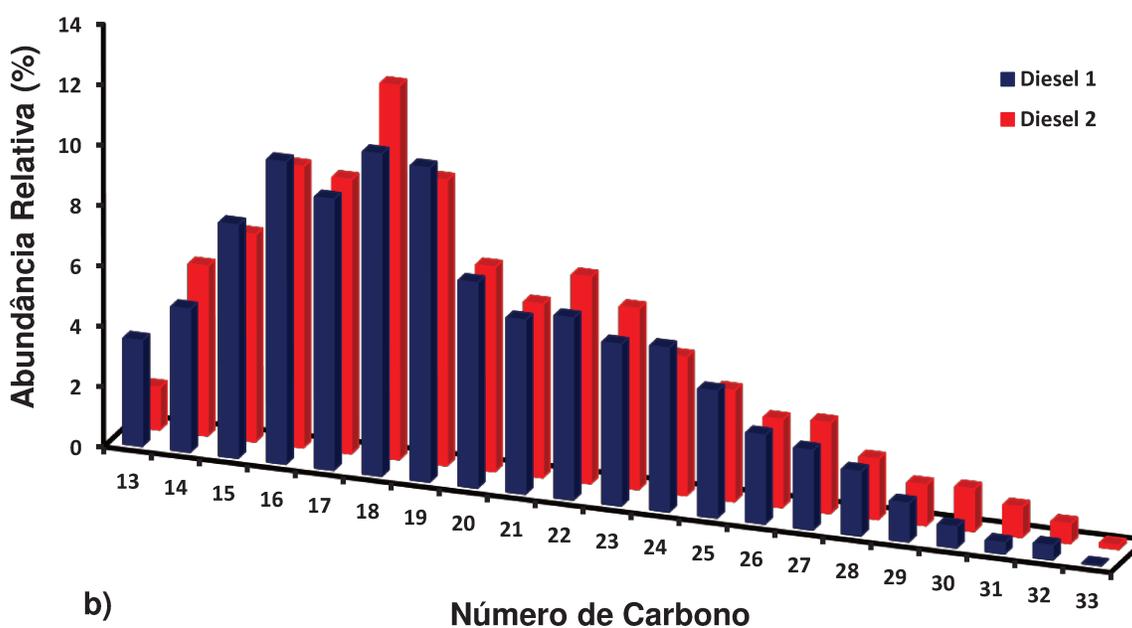
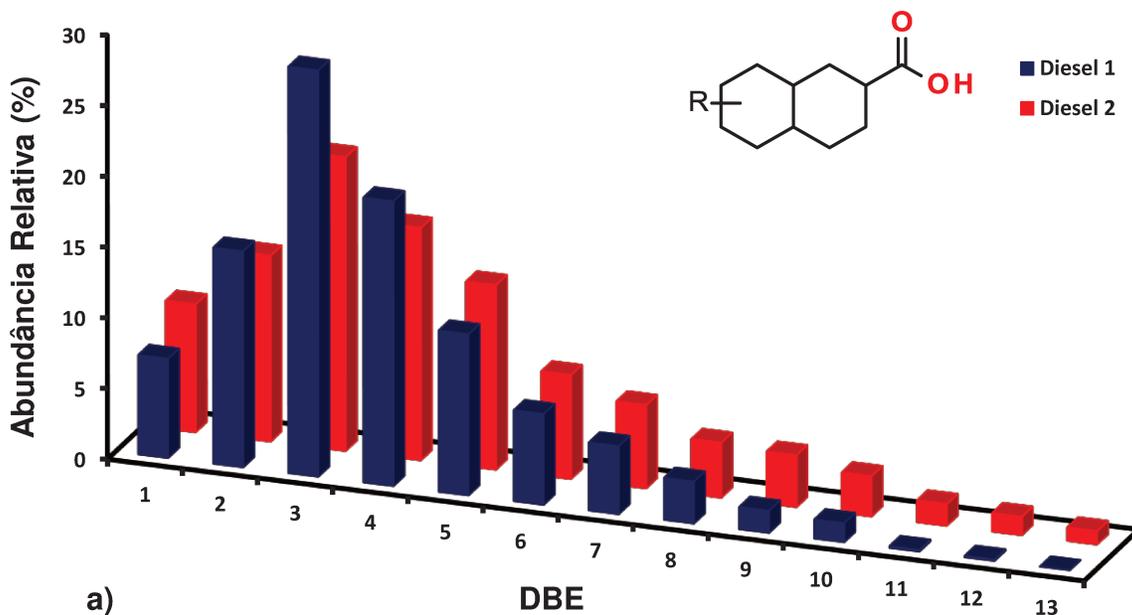


Figura 4.27. Distribuição relativa da classe O_2 para duas amostras de diesel analisadas por ESI (-) UHRT MS na faixa de 200-600 m/z . **a)** Distribuição de DBE. **b)** Distribuição de número de carbono.

Estes resultados mostram a utilidade da análise por UHRT MS na análise da composição de polares tanto nos cortes de destilação quanto em amostras de petróleo bruto.

4.5. CONCLUSÕES

Este trabalho compara a análise por FT-ICR com um novo analisador TOF baseado na multireflexão dos íons que atinge 100.000 de poder de resolução. Os resultados aqui apresentados demonstram que o UHRT apresenta resolução e exatidão suficientes para análises das classes majoritárias de compostos polares por MS *fingerprint* de amostras de petróleo e cortes de destilação, de maneira rápida e a custo muito inferior, se comparado com o custo do FT-ICR e sua manutenção, principalmente quanto ao consumo de hélio líquido. Desta maneira UHRT MS pode servir para a análise de rotina tanto no acompanhamento dos processos da indústria petrolífera, como remoção de classes de heteroátomos de cortes de destilação, quanto nos estudos petroleômicos. Esta é a primeira geração de TOF com multireflexão e 100.000 de poder de resolução e em teoria pode chegar a 200.000 (Verentchikov *et al.* 2005). O UHRT com 200.000 de poder de resolução seria superior ao FT-ICR MS 400.000@400 acima da m/z 800 e ainda teria um custo inferior, tornando-se não só um equipamento atraente para as pesquisas acadêmicas quanto para a rotina de análises da indústria petrolífera.

4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altgelt, K.H.; M.M. Boduszynski, M.M. Composition and Analysis of Heavy Petroleum Fractions, 1994.

Barrow, M.P.; McDonnell, L.A.; Feng, X.; Walker, J.; Derrick, P.J. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 860-866.

Coelho, F.; Eberlin, M.N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5261-5263.

Corilo, Y.E.; Vaz, B.G.; Simas, R.C.; Nascimento, H.D.L.; Klitzke, C.F.; Pereira, R.C.L.; Bastos, W.L.; Santos-Neto, E.V.; Rodgers, R.P.; Eberlin, M.N. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3990-3996.

Cotter, R.J. Time-of-Flight Mass Spectrometry – Instrumentation and Applications in Biological Research, American Chemical Society, Washington, 1997.

Fenn, J.B.; Mann, M.; Meng, C.K.; Wong, S.F.; Whitehouse, C.M. *Science* **1989**, *246*, 64-71.

Fu, J.M.; Kim, S.; Rodgers, R.P.; Hendrickson, C.L.; Marshall, A.G.; Qian, K.N. *Energy Fuels* **2006**, *20*, 661-667.

- Guan, S.; Marshall, A.G.; Scheppele, S.E. *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 46-71.
- Guilhaus, M.; Selby, D.; Mlynski, V. *Mass Spectrometry Reviews* **2000**, *19*, 65-107.
- Haddad, R.; Regiani, T.; Klitzke, C.F.; Sanvido, G.B.; Corilo, Y.E.; Augusti, D.V.; Pasa, V.M.D.; Pereira, R.C.C.; Romão, W.; Vaz, B.G.; Augusti, R.; Eberlin, M.N. *Energy Fuels* **2012**, *26*, 3542-3547.
- Hughey, C.A.; Rodgers, R.P.; Marshall, A.G.; Qian, K.; Robbins, W.K. *Org. Geochem.* **2002**, *33*, 743-759.
- Hughey, C.A.; Rodgers, R.P.; Marshall, A.G.; Walters, C.C.; Qian, K.; Mankiewicz, P. *Org. Geochem.* **2004**, *35*, 863-880.
- Klein, G.C.; Rodgers, R.P.; Marshall, A.G. *Fuel* **2006**, *85*, 2071-2080.
- Mapolelo, M.M.; Rodgers, R.P.; Blakney, G.T.; Yen, A.T.; Asomaning, S.A.; Marshall, A.G. *Int. J. Mass Spectrom.* **2011**, *300*, 149-157.
- Mapolelo, M.M.; Stanford, L.A.; Rodgers, R.P.; Yen, A.T.; Debord, J.D.; Asomaning, S.; Marshall, A.G. *Energy Fuels* **2009**, *23*, 349-355.
- Marshall, A.G.; Rodgers, R.P. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 53-59.
- Marshall, A.G.; Rodgers, R.P. *PNAS* **2008**, *105*, 18090-18095.
- Pomerantz, A.E.; Mullins, O.C.; Paul, G.; Ruzicka, J.; Sanders, M. *Energy Fuels* **2011**, *25*, 3077-3082.
- Rodgers, R.P.; Schaub, T.M.; Marshall, A.G. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 20A-27A.
- Verentchikov, A.N.; Yavor, M.I.; Hasin, Y.I.; Gavrik, M.A. *Technical Physics* **2005**, *50*, 73-81.
- Verentchikov, A.N.; Yavor, M.I.; Hasin, Y.I.; Gavrik, M.A. *Technical Physics* **2005**, *50*, 82-86.
- Weickhardt, C.; Moritz, F.; Grotemeyer, J. *Mass Spectrometry Reviews* **1996**, *15*, 139-162.
- Zhan, D.; Fenn, J.B. *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, *194*, 197-208.

CAPÍTULO 5

Caracterização de Ácidos Carboxílicos Lineares e Cíclicos por Mobilidade Iônica Acoplada a Espectrometria de Massas e Sua Aplicação na Análise de Petróleo e Cortes de Destilação

5.1. INTRODUÇÃO

Petroleômica é o estudo de todos os componentes presentes no petróleo e como estes componentes afetam as propriedades e a reatividade do petróleo. A caracterização e identificação de todos os compostos do petróleo é um grande desafio para a química analítica devido a alta complexidade desta matriz que possui uma altíssima variedade de compostos químicos. Modernamente, a espectrometria de massas de ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) é a técnica analítica mais indicada para os estudos de petroleômica devido a sua altíssima resolução e exatidão, que permite a identificação da composição elementar de misturas altamente complexas, o que possibilita a classificação baseada na distribuição de classes de heteroátomos, equivalentes de duplas ligações (DBE) e número de carbono (Comisarow e Marshall, 1974; Marshall *et al.* 1998; Schaub *et al.* 2008).

A análise por FT-ICR MS permite a caracterização do petróleo, fornecendo dados para determinação de parâmetros geoquímicos importantes como: origem, grau de maturação, grau de biodegradação e evolução térmica. Além de auxiliar na determinação dos processos de extração, destilação, catálise e outros processos importantes na cadeia petrolífera (Marshall e Rodgers, 2004). Entretanto, a espectrometria de massas por FT-ICR ou outro analisador de massas, não fornece informação sobre a estrutura tridimensional dos íons, ou mesmo a capacidade de distinguir isômeros e confôrmeros, que apresentam a mesma fórmula molecular, mas propriedades e reatividades distintas.

Uma técnica importante na análise estrutural de íons na fase gasosa é a mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas (IM-MS) que permite a

separação dos íons baseada nas suas seções de choque, que são decorrentes do tamanho e conformação espacial. Os íons atravessam uma cela de mobilidade onde é aplicado um campo elétrico e um fluxo de gás contra-corrente (*drift gas*). A polarizabilidade do *drift gas* pode melhorar a separação de alguns analitos (Lalli, 2010; Lalli *et al.* 2011). O acoplamento da mobilidade iônica com a espectrometria de massas resulta em uma ferramenta extremamente versátil, capaz de investigar a estrutura molecular e separar amostras complexas, incluindo isômeros, através da seção de choque (Cohan e Karasek, 1970; Stach e Baumbach, 2002; Kanu *et al.* 2008). A IM-MS tem sido utilizada largamente na elucidação estrutural de biomoléculas na fase gasosa, principalmente nos estudos conformacionais de peptídeos e proteínas (von Helden *et al.* 1995; Clemmer *et al.* 1995; Hoaglund-Hyzer *et al.* 1999; Ruotolo *et al.* 2004; Bohrer *et al.* 2008).

Na análise petroleômica por MS a informação sobre a estrutura tridimensional dos compostos presentes no petróleo é de alta importância na determinação de isômeros e conformações com propriedades distintas, reatividade ou mesmo grau de toxidez. Desta forma, a análise por IM-MS pode complementar as análises por FT-ICR MS.

Becker *et al.* (2008) analisaram amostras de petróleo com e sem asfaltenos por IM-MS com dessorção e ionização a laser (LDI), mostrando que as razões m/z maiores de 3000 são resultantes da agregação de asfaltenos na fase gasosa. Fernandez-Lima *et al.* (2009) estudaram petróleos distintos por IM-MS através da dessorção e ionização por laser (LDI) comparando as classes de heteroátomos de petróleos leves, de densidade média e pesada. Os resultados mostraram uma tendência de mobilidade baseada na planaridade e também na formação de agregados de massa molar mais elevada. Mais recentemente, Ahmed *et al.* (2011) estudaram o padrão de *drift time* em séries homólogas dentro de uma classe de heteroátomos, mostrando o efeito do número de hidrogênio das moléculas, que reflete no nível de aromatização, com o incremento linear de *drift time*.

5.2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é estudar possíveis relações entre estrutura molecular e *drift time* através IM-MS, como reflexo das diferenças nas seções de choque em alguns ácidos orgânicos presentes no petróleo, comparando os efeitos do uso de CO₂ e N₂ como *drift gas*, bem como estudar os padrões de mobilidade de cortes de destilação de petróleo e amostras de petróleo.

5.3. PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes químicos e amostras de petróleo. Padrões analíticos de ácidos carboxílicos lineares e cíclicos foram comprados da Sigma-Aldrich (WI, EUA) e utilizados diretamente sem qualquer purificação prévia. O ácido 2-carboxílico deca-hidro-naftaleno foi sintetizado pela hidrogenação catalítica do ácido 2-carboxílico 1,2,3,4-tetra-hidro-naftóico, em solução em metanol, sob pressão de 80 bar de hidrogênio por 72 horas, utilizando PtO₂ como catalisador. Após filtração, o produto da hidrogenação foi caracterizado por FT-ICR MS e utilizado sem qualquer purificação. As amostras foram diluídas em metanol (grau HPLC, Honeywell Burdick & Jackson, MI, USA) e infundidas diretamente na fonte de ESI através de bomba de seringa na vazão de 10 a 20 µL·min⁻¹. Os padrões dos ácidos ergostanóicos, biomarcadores de biodegradação, foram gentilmente fornecidos pelo Prof. Dr. Francisco A. M. Reis, do Instituto de Química, UNICAMP. As amostras de petróleo foram fornecidas pelo CENPES – PETROBRAS. As amostras de petróleo foram diluídas em metanol-tolueno 2:1 (v/v) com hidróxido de amônio em concentrações que variaram de 0,1 a 5%, dependendo da eficiência de ionização.

Análise por IM-MS. Os experimentos de mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas utilizaram o ESI-TWIM-MS Synapt HDMS (Waters Corp., Manchester, UK). Trata-se de um espectrômetro de massas híbrido que contém um quadrupolo, uma cela de mobilidade iônica e um analisador TOF em geometria ortogonal. A **Figura 5.1** mostra um diagrama esquemático do equipamento. O setor de mobilidade *triwave* (T-wave) possui um *trap* com argônio

para acumular os íons provenientes do quadrupolo, uma cela de mobilidade (IMS) e o *transfer* para transmitir os íons, previamente separados pela cela de mobilidade, para o TOF ortogonal.

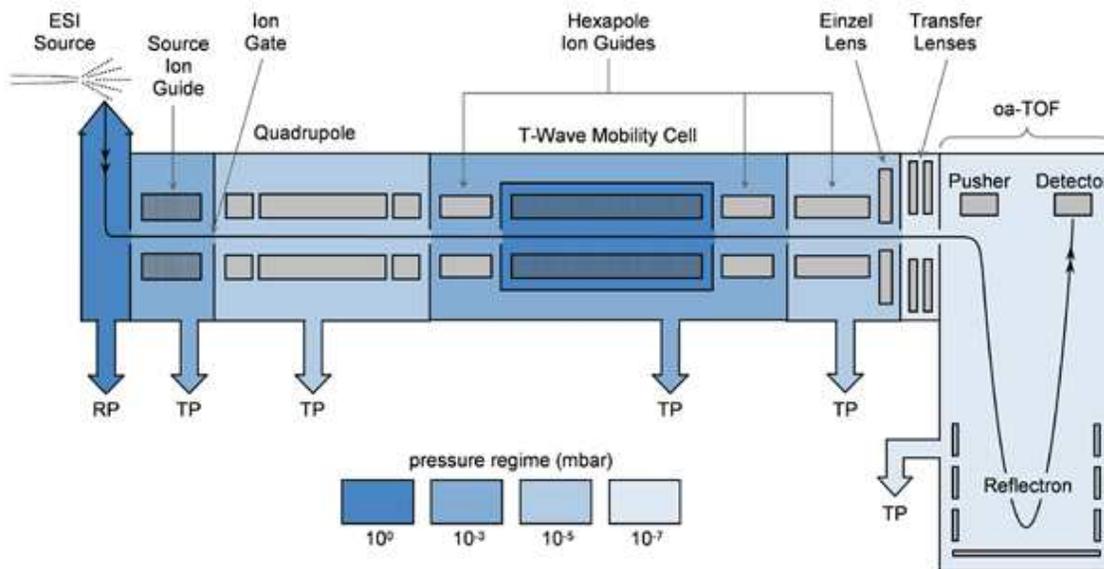


Figura 5.1. Diagrama esquemático do Synapt TWIM-MS HDMS (Waters Corp.). O setor de mobilidade *triwave* (T-wave) está localizado entre o quadrupolo e o TOF ortogonal e compreende um *trap*, a cela de mobilidade (IMS) e o *transfer*.

O TOF foi previamente calibrado no modo negativo com solução de ácido fosfórico. O poder de resolução do analisador TOF nas análises de mobilidade (modo reflectron) ficou na ordem de 8.000. Quando necessário os espectros de MS obtidos foram recalibrados posteriormente utilizando os valores de m/z obtidos nas análises por FT-ICR MS. As condições experimentais utilizadas foram: ESI (-) com potencial do capilar 2,3 kV, cone de amostragem 20 V, cone de extração 3V, temperatura da fonte 150 °C, temperatura de dessolvatação 200 °C, N₂ de dessolvatação com vazão de 300 mL·min⁻¹. As condições da cela de T-wave (velocidade e altura da onda) foram otimizados para cada experimento, utilizando CO₂ e N₂ como *drift gas*. A **Figura 5.2** mostra a cela de mobilidade (IMS) e o efeito do campo elétrico aplicado com determinado valor de velocidade e altura

(potencial). Os pacotes de íons são transferidos do *trap* para a cela de mobilidade e os íons são separados ao longo do percurso por suas seções de choque.

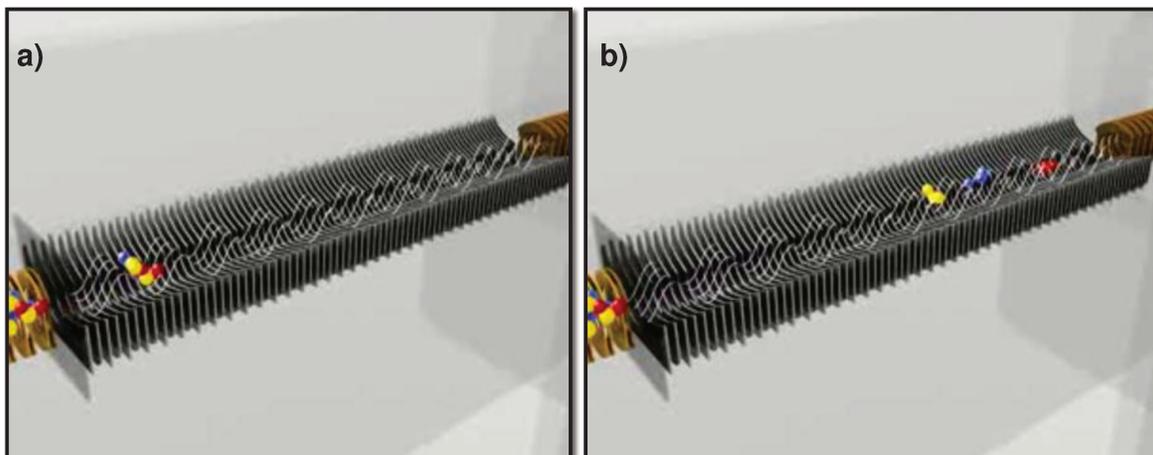


Figura 5.2. Diagrama esquemático da cela de mobilidade iônica (IMS) do Synapt TWIM-MS HDMS (Waters Corp). **a)** transferência dos íons do trap para a cela de mobilidade. **b)** separação dos pacotes de íons baseada nas suas seções de choque, por efeito do campo elétrico e *drift gas*.

Devido a sua maior polarizabilidade e massa molar, CO₂ foi utilizado como gás de mobilidade (*drift gas*) à pressão de 1 a 1,5 mbar. Também realizamos experimentos com N₂ à pressão de 2 a 2,4 mbar. Os espectros de petróleo foram adquiridos na faixa de *m/z* 200-900. Os espectros foram adquiridos e processados no programa MassLynx 4.1 (Waters Corp). Para a construção dos gráficos de mapas dos íons em relação ao *drift time* das amostras de petróleo e cortes de ácidos foi utilizado o programa DriftScope 2.1 (Waters Corp).

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mobilidade iônica dos ácidos carboxílicos lineares

A série homóloga de ácidos lineares saturados de C12:0 a C24:0 foram analisadas utilizando CO₂ (**Figura 5.3.a**) e N₂ (**Figura 5.3.b**) como *drift gas*. Os resultados obtidos mostram uma tendência linear entre o aumento do *drift time* com incremento de massa (**Figura 5.4**). Este resultado indica que as mudanças de seção de choque nos ácidos analisados se devem exclusivamente a adição de mais átomos na cadeia, aumentando a massa molecular, não existindo efeitos conformacionais como enovelamento.

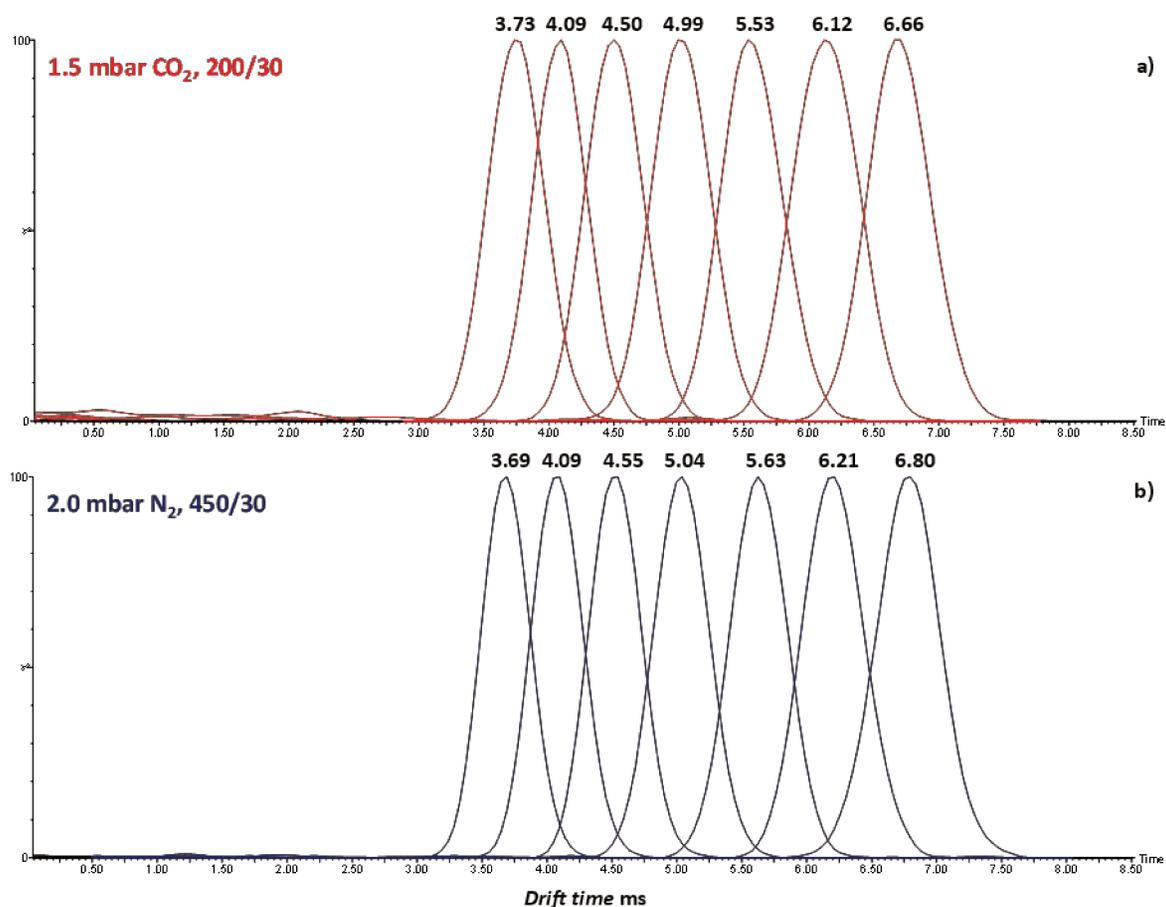


Figura 5.3. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura de ácidos carboxílicos lineares C12:0 (m/z 199), C14:0 (m/z 227), C16:0 (m/z 255), C18:0 (m/z 283), C20:0 (m/z 311), C22:0 (m/z 339), C24:0 (m/z 367). Condições de análise: **a)** 1.5 mbar de CO₂, velocidade da onda 200 m·s⁻¹ e altura 30 V. **b)** 2.0 mbar de N₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V.

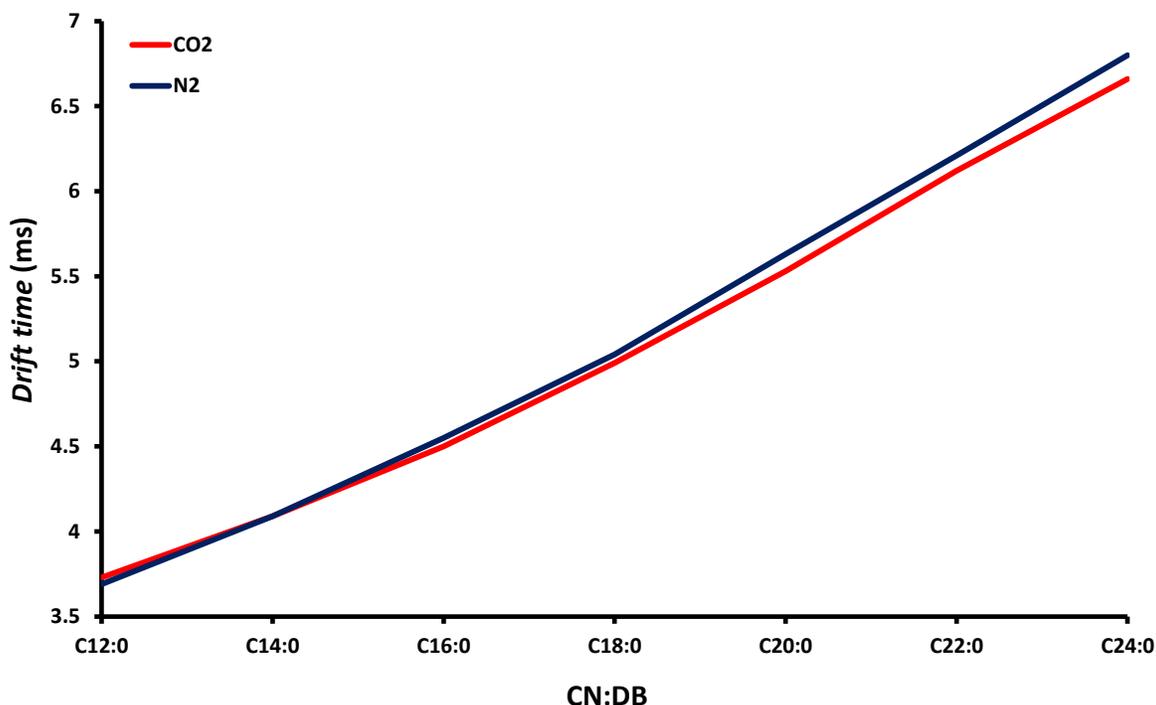


Figura 5.4. Relação entre o aumento do número de carbono e *drift time* para a mistura de ácidos carboxílicos lineares. (Número de Carbono:Dupla Ligação – CN:DB).

Efeito da insaturação na mobilidade iônica de ácidos carboxílicos lineares

Apesar dos ácidos carboxílicos lineares insaturados não existirem no petróleo, estudou-se o efeito da incorporação de duplas ligações de geometria Z, que poderiam resultar em mudanças conformacionais significativas. A **Figura 5.5** mostra a separação destes ácidos graxos insaturados por diferenças de *drift time* muito reduzidas. Existe uma tendência de redução do *drift time* com aumento do número de insaturações, havendo um efeito um pouco maior quando N₂ é utilizado como drift gas (**Figura 5.6**). Esta sutil redução do *drift time* pode ser devida a uma diminuição da seção de choque pela diminuição da massa, ou por criar uma estrutura mais compacta, mais enovelada.

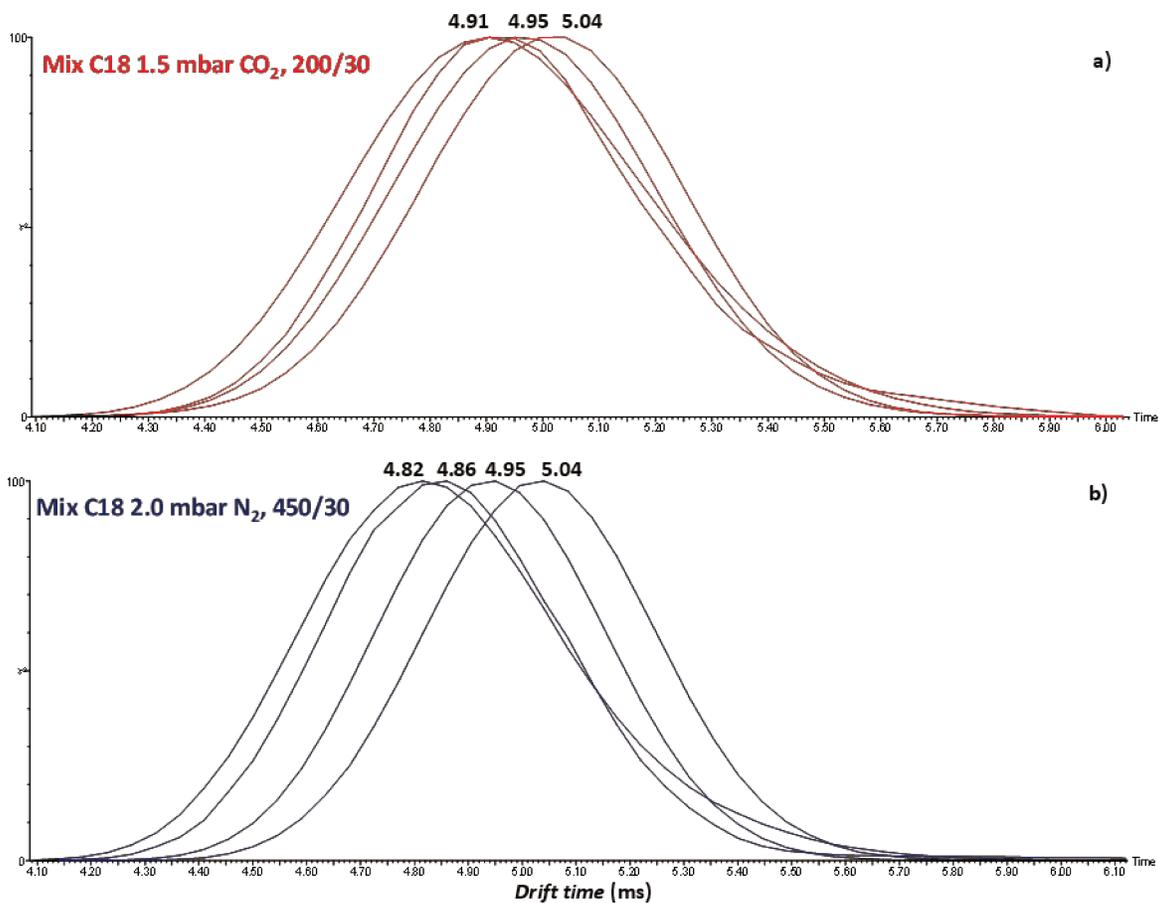


Figura 5.5. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura de ácidos carboxílicos lineares C18:0 até C18:3, respectivamente, esteárico (m/z 283), oleico (m/z 281), linoleico (m/z 279) e linolênico (m/z 277). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 200 m·s⁻¹ e altura 30 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V.

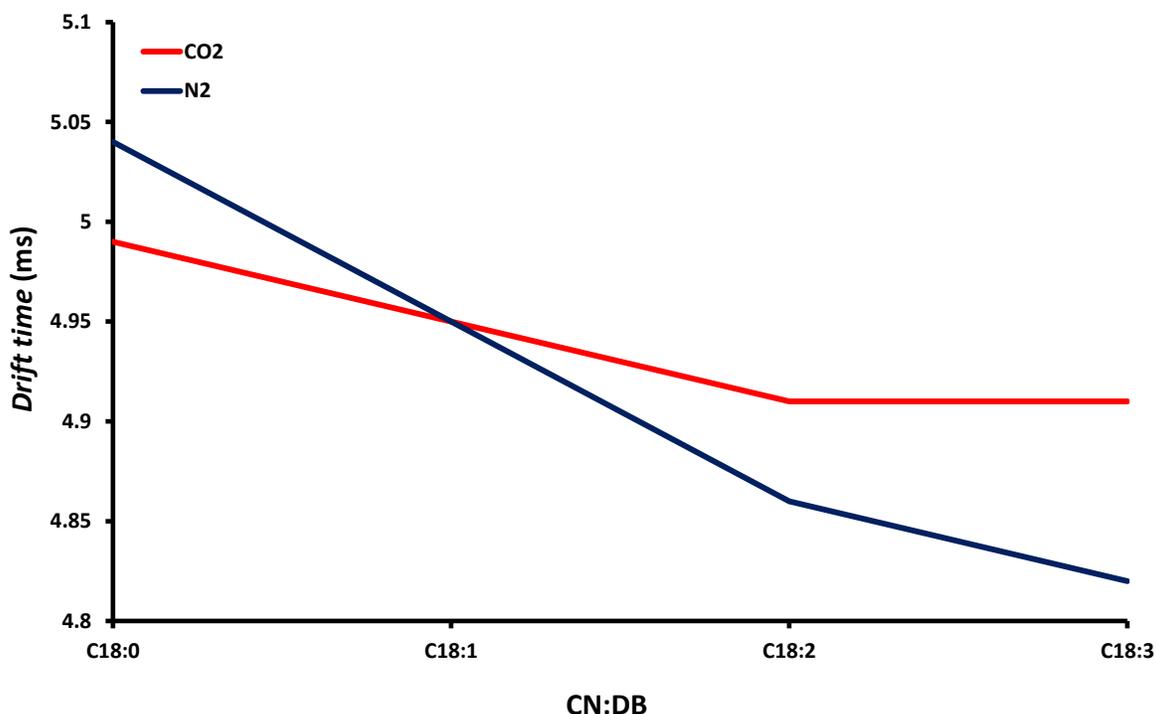


Figure 5.6. Relação entre o número de duplas ligações de geometria Z e *drift time* de ácidos carboxílicos lineares C18.

Mobilidade iônica dos ácidos carboxílicos cíclicos

Ácidos carboxílicos monocíclicos e bicíclicos com diferentes graus de insaturação (representados com equivalentes de duplas ligações – DBE) foram analisados com o uso de CO₂ e N₂ como *drift gas*. A **Figura 5.7** mostra o efeito da ciclização e número de insaturações no *drift time*. Pode-se observar que tanto para os monocíclicos quanto bicíclicos o aumento de DBE leva a uma redução nos valores de *drift time* (**Figura 5.8**). Isto pode ser explicado pelo aumento da planaridade do anel, bem como pela diminuição da massa.

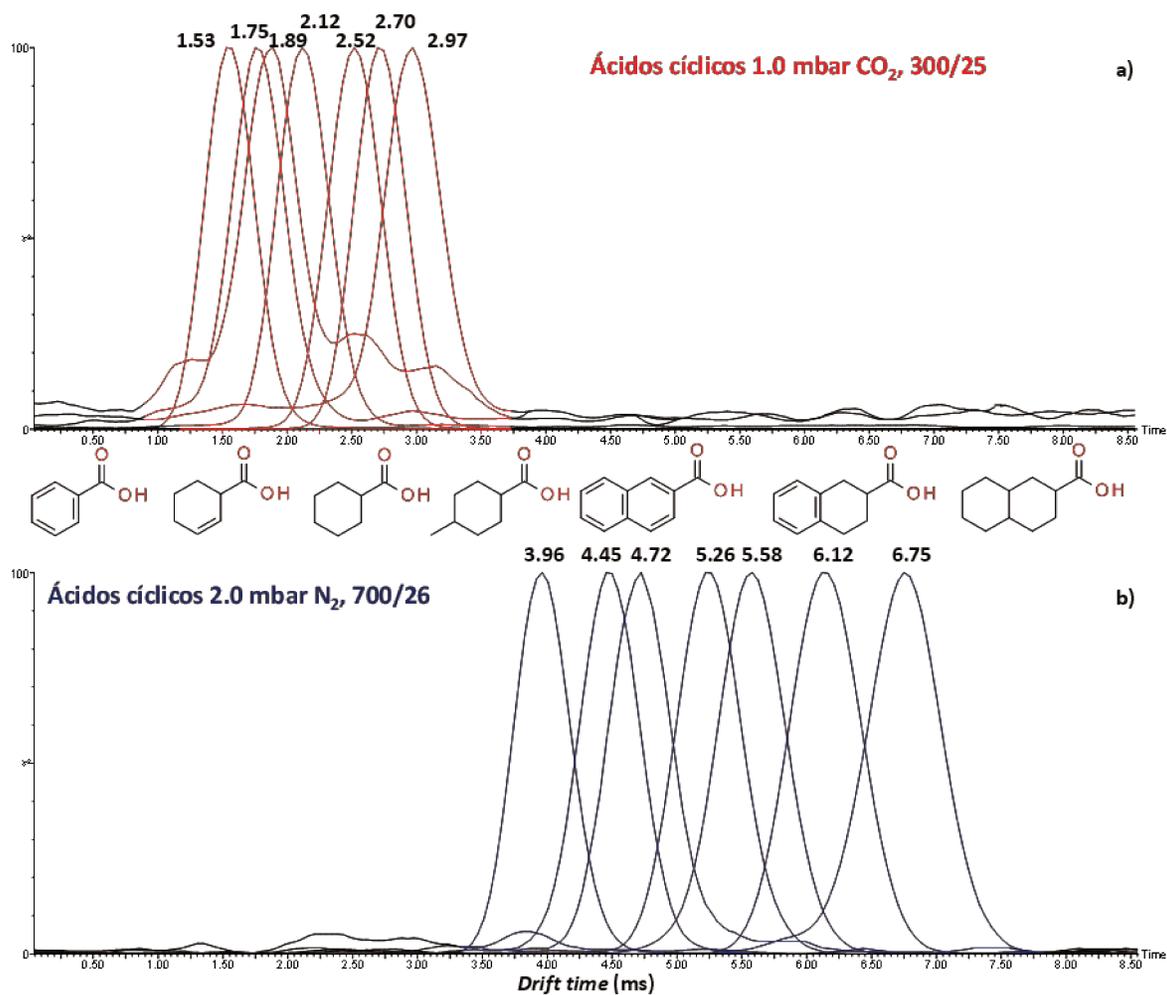


Figura 5.7. Influência do DBE e número de carbono no *drift time* de ácidos carboxílicos cíclicos. Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 700 m·s⁻¹ e altura 26 V.

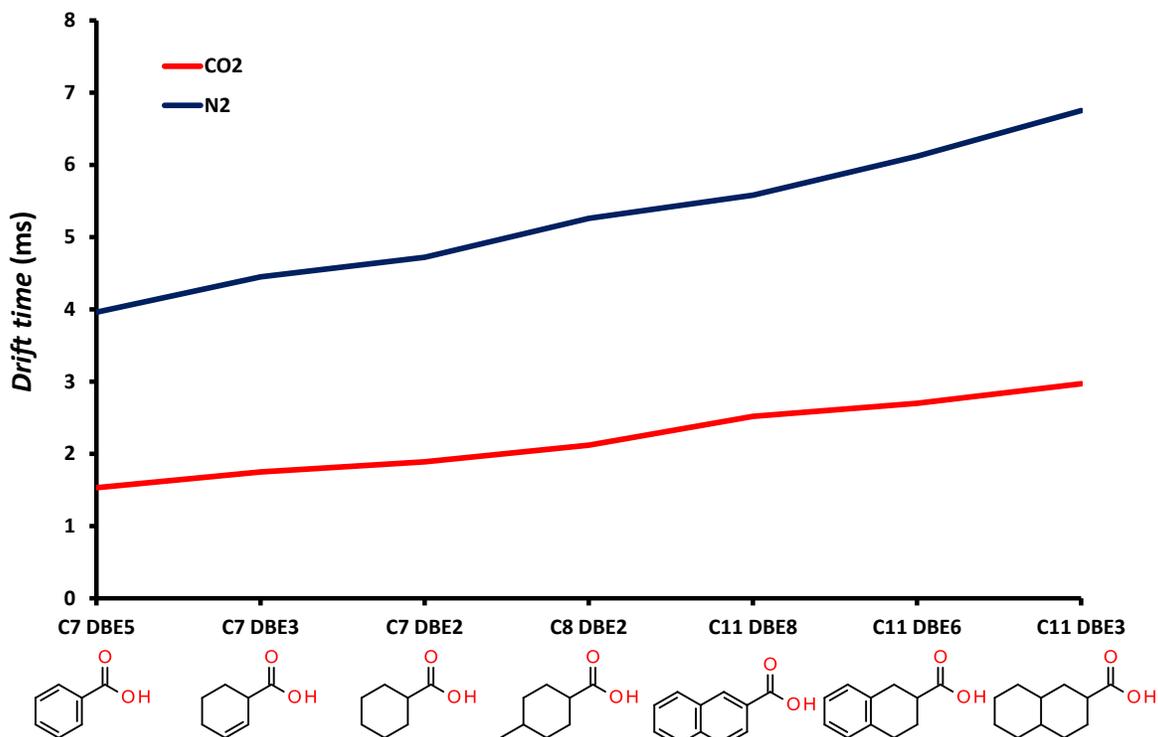


Figure 5.8. Influência do DBE e número de carbono no *drift time* de ácidos carboxílicos cíclicos.

Para verificar se o efeito da diminuição do *drift time* é causado pela redução de m/z ou pela diminuição da seção de choque com o aumento de DBE comparou-se a mobilidade iônica da mistura de ácido benzóico (m/z 121), ácido benzóico perdeuterado (m/z 126) e ácido ciclo-hexanóico (m/z 127). A **Figura 5.9** mostra a separação obtida para os ácidos benzóico e ciclo-hexanóico com o uso de CO₂ ou N₂ como *drift gas*. Novamente observamos uma melhor separação com o uso de N₂. Com a adição do ácido benzóico perdeuterado pode-se observar que o *drift time* para m/z 126 é muito mais próximo do *drift time* do ácido benzóico que do ácido ciclo-hexanóico (**Figura 5.10**) indicando que a diferença de seção de choque se deve mais pelo número de insaturações que pela diminuição de massa, pela respectiva diminuição do número de hidrogênio. Pode-se observar uma assimetria do pico para m/z 127 na **Figura 5.10.a** e uma duplicação para o mesmo sinal em **5.10.b**. Isto se deve ao isotópulo do ácido benzóico perdeuterado contendo um ¹³C, que possui a mesma m/z 127 do ácido ciclo-hexanóico.

Novamente, este resultado indica que as diferenças entre os *drift time* dos ácidos benzóico, benzóico perdeuterado e ciclo-hexanóico são devidas a diferenças de seção de choque pela mudança de DBE e não meramente pelo valor de m/z .

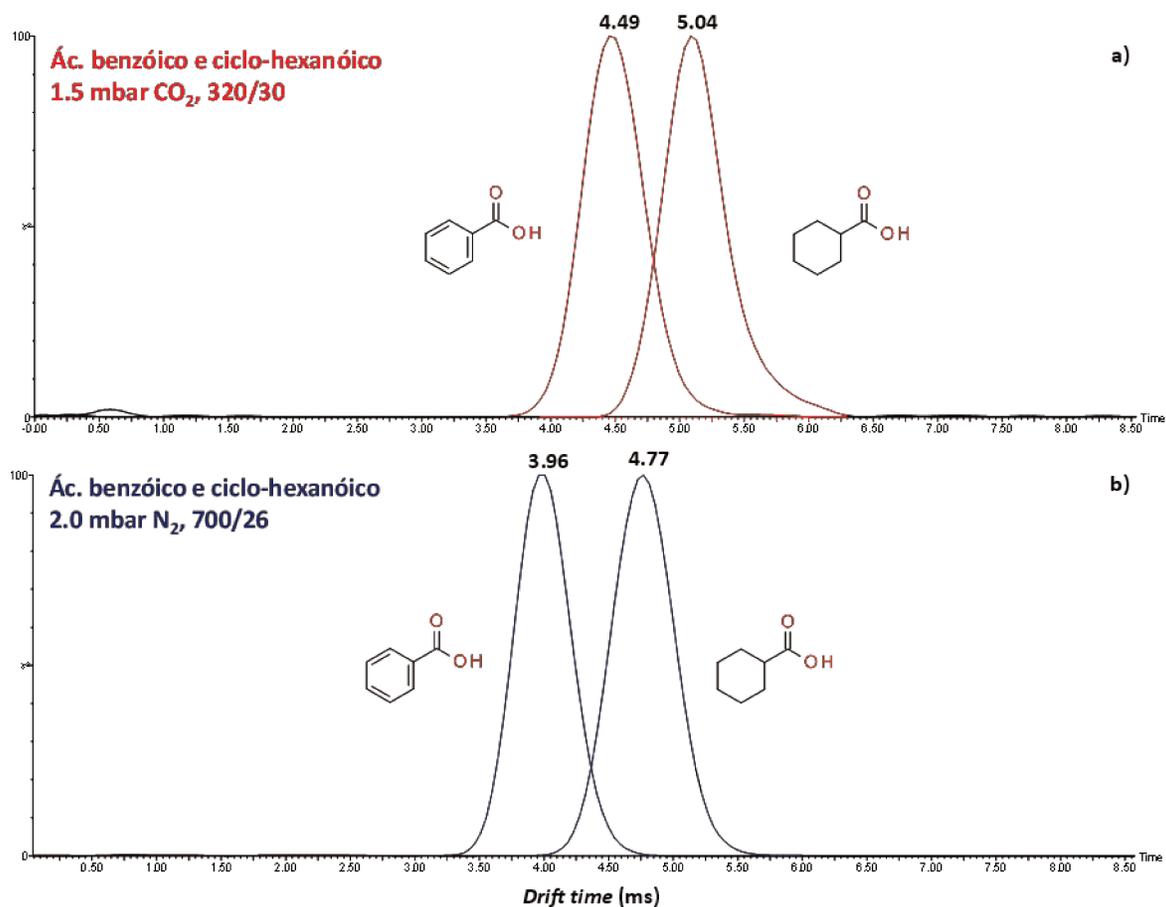


Figura 5.9. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura de ácido benzóico (m/z 121) e ciclo-hexanóico (m/z 127). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 320 m·s⁻¹ e altura 30 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 700 m·s⁻¹ e altura 26 V.

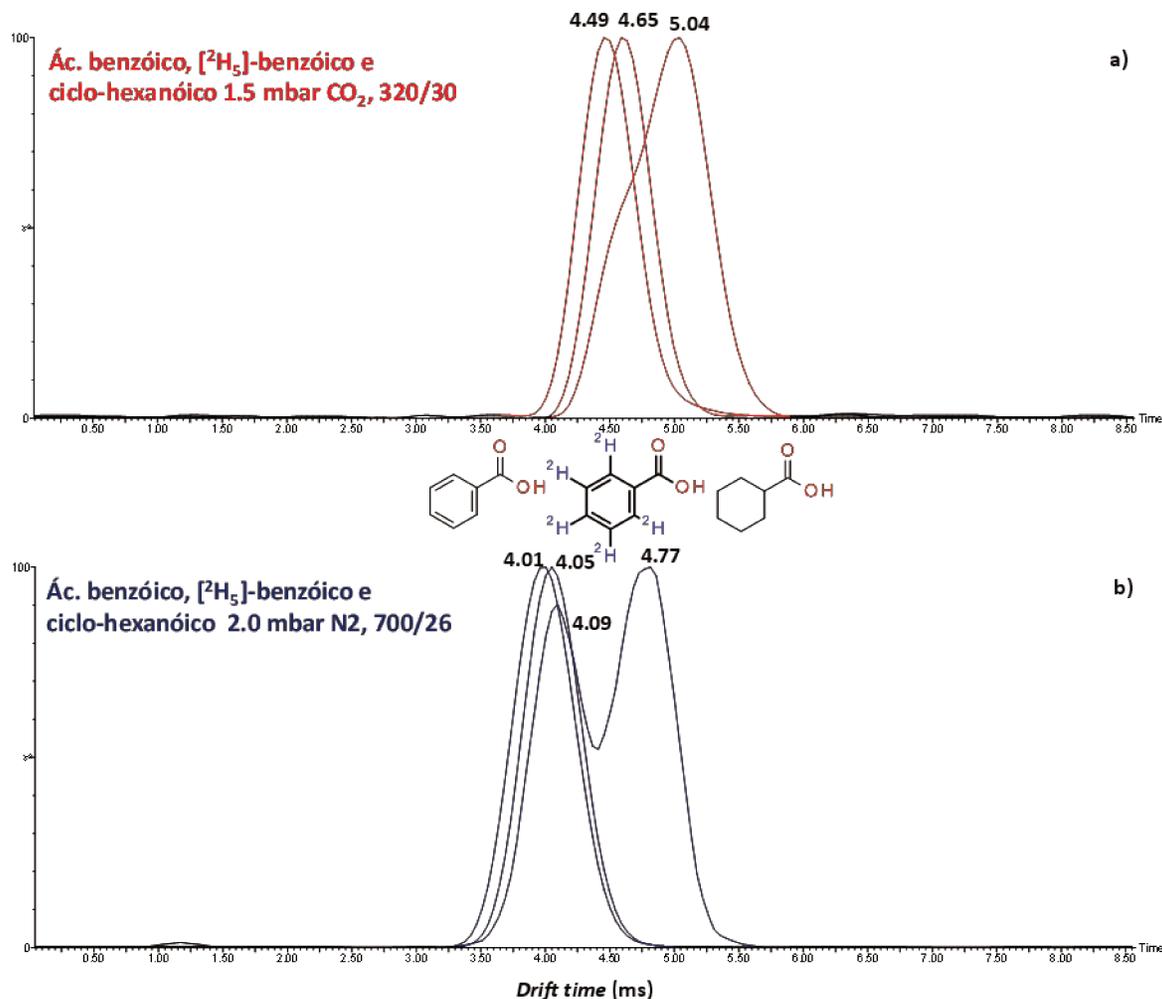


Figura 5.10. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura de ácido benzóico (m/z 121), $[^2\text{H}_5]$ -benzóico (m/z 126) e ciclo-hexanóico (m/z 127). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO_2 , velocidade da onda $320 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ e altura 30 V. **b)** 2,0 mbar de N_2 , velocidade da onda $700 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ e altura 26 V. O sinal em 4,09 ms representa o *drift time* do isotópulo do ácido benzóico perdeuterado contendo $^{13}\text{C}_1$.

Mobilidade iônica de ácido carboxílico cíclico vs ácido carboxílico linear

Para testar o efeito da ciclização comparou-se a mobilidade iônica do ácido octanóico com dois ácidos cíclicos com oito carbonos (ácido 3-ciclo-pentil-propiónico e ácido 4-metil-1-ciclo-hexano-carboxílico).

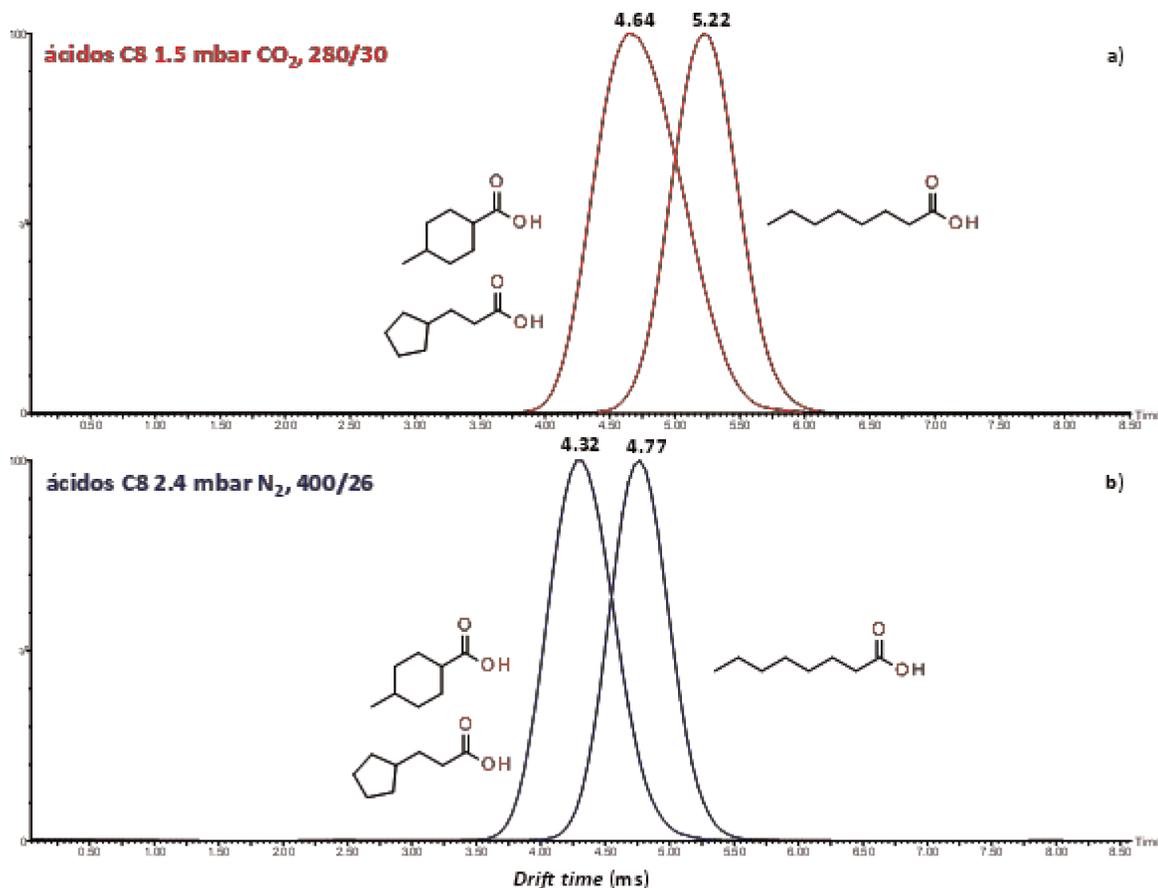


Figura 5.11. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura dos ácidos C-8 cíclicos (3-ciclo-pentil-propionico e 4-metil-1-ciclo-hexano-carboxílico, m/z 141) e linear (octanico, m/z 143). Condições de análise: **a)** 1,5 mbar de CO₂, velocidade da onda 280 m·s⁻¹ e altura 30 V. m/z 141 dt = 4,64 ms, m/z 143 dt = 5,22 ms. **b)** 2,4 mbar de N₂, velocidade da onda 400 m·s⁻¹ e altura 26 V. m/z 141 dt = 4,32 ms, m/z 143 dt = 4,77 ms.

A **Figura 5.11** mostra que os ácidos cíclicos apresentam *drift time* menor que o ácido linear com o mesmo número de carbonos. No entanto não foi possível separar o ácido 3-ciclo-pentil-propionico e o ácido 4-metil-1-ciclo-hexano-carboxílico. A diferença de seção de choque entre estes dois ácidos cíclicos deve ser muito pequena e o Synapt HDMS não possui resolução suficiente na cela de mobilidade para separar os respectivos *drift time*.

Mobilidade iônica de isômeros de ácidos carboxílicos cíclicos

Tentou-se caracterizar por mobilidade iônica dois isômeros de ácidos carboxílicos bicíclicos que também podem ser encontrados no petróleo. No entanto, não foi obtido sucesso. Estes isômeros analisados individualmente, ou como mistura, apresentam exatamente o mesmo *drift time*. A **Figura 5.12** mostra o insucesso na separação destes compostos utilizando Synapt TWIM-MS HDMS. Tanto nestes ácidos bicíclicos quanto nos ácidos monocíclicos da Figura 5.11 a análise necessita de equipamento com maior resolução de separação por mobilidade iônica, como exemplo, a geração posterior de TWIM-MS, Synapt G2 .

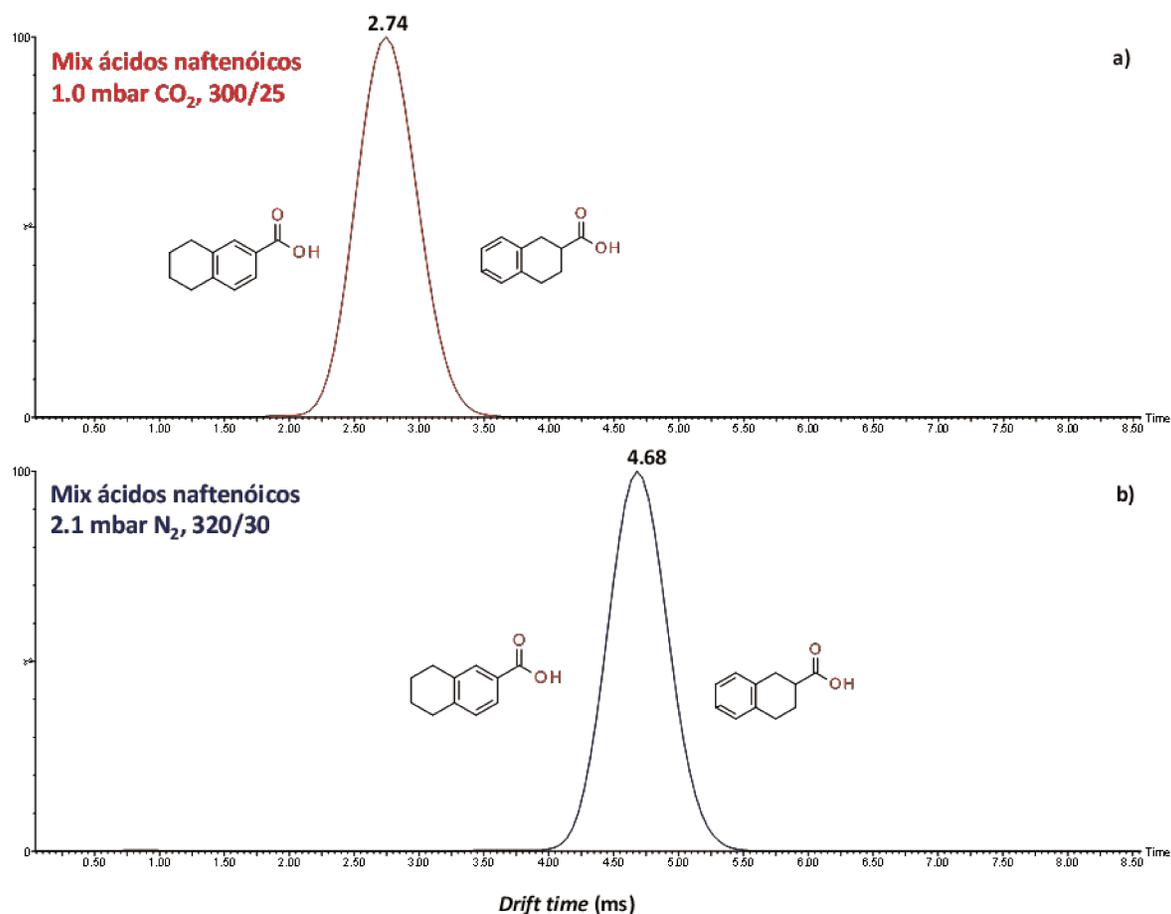


Figura 5.12. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura do ácidos 1,2,3,4-tetra-hidro-2-naftóico e o isômero 5,6,7,8-tetra-hidro-2-naftóico. Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. **b)** 2,1 mbar de N₂, velocidade da onda 320 m·s⁻¹ e altura 30 V.

Mobilidade iônica dos biomarcadores ácidos ergostanóicos

Analisaram-se alguns biomarcadores de biodegradação descritos no trabalho de De Lima *et al.* (2010) que apresentam isomeria de fusão de anel. Os padrões sintetizados e fornecidos pelo grupo do Prof. Dr. Francisco A. M. Reis (Instituto de Química, UNICAMP) foram analisados individualmente e em mistura (α e β). A **Figura 5.13** mostra as diferenças de mobilidade entre os isômeros α e β (para R = H). Pode-se observar uma boa separação com o uso de CO₂ como *drift gas*, o que indica uma grande diferença entre as seções de choque de ambos isômeros, possuindo o isômero β uma seção de choque menor que o isômero α .

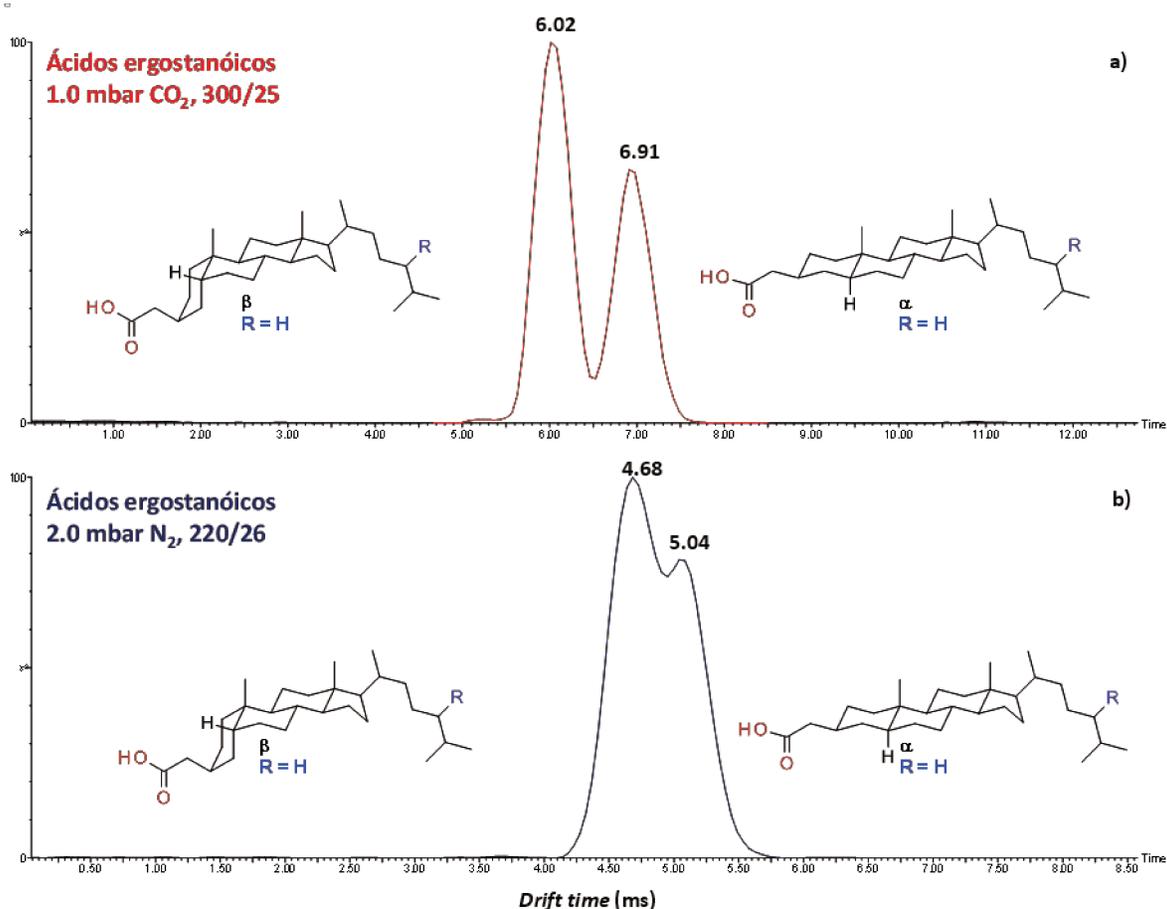


Figura 5.13. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura do ácidos α e β ergostanóicos (R = H). Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. **b)** 2,0 mbar de N₂, velocidade da onda 220 m·s⁻¹ e altura 26 V.

A análise dos isômeros α e β homólogos (etilados) também corroborou esta interpretação. Pode-se observar na **Figura 5.14** uma excelente separação de *drift time* entre os isômeros α e β com CO_2 como *drift gas*, novamente o isômero β apresenta um *drift time* menor, indicando uma menor seção de choque. Comparando os resultados para CO_2 como *drift gas* nas **Figuras 5.13** e **5.14** pode-se notar que o isômero β com o grupo etil na cadeia linear possui um *drift time* de 6,34 ms, inferior ao *drift time* do isômero α com $\text{R} = \text{H}$. Isso mostra que a seção de choque do isômero β é menor que α , até mesmo para o isômero homólogo com $\text{R} = \text{etil}$, de maior m/z .

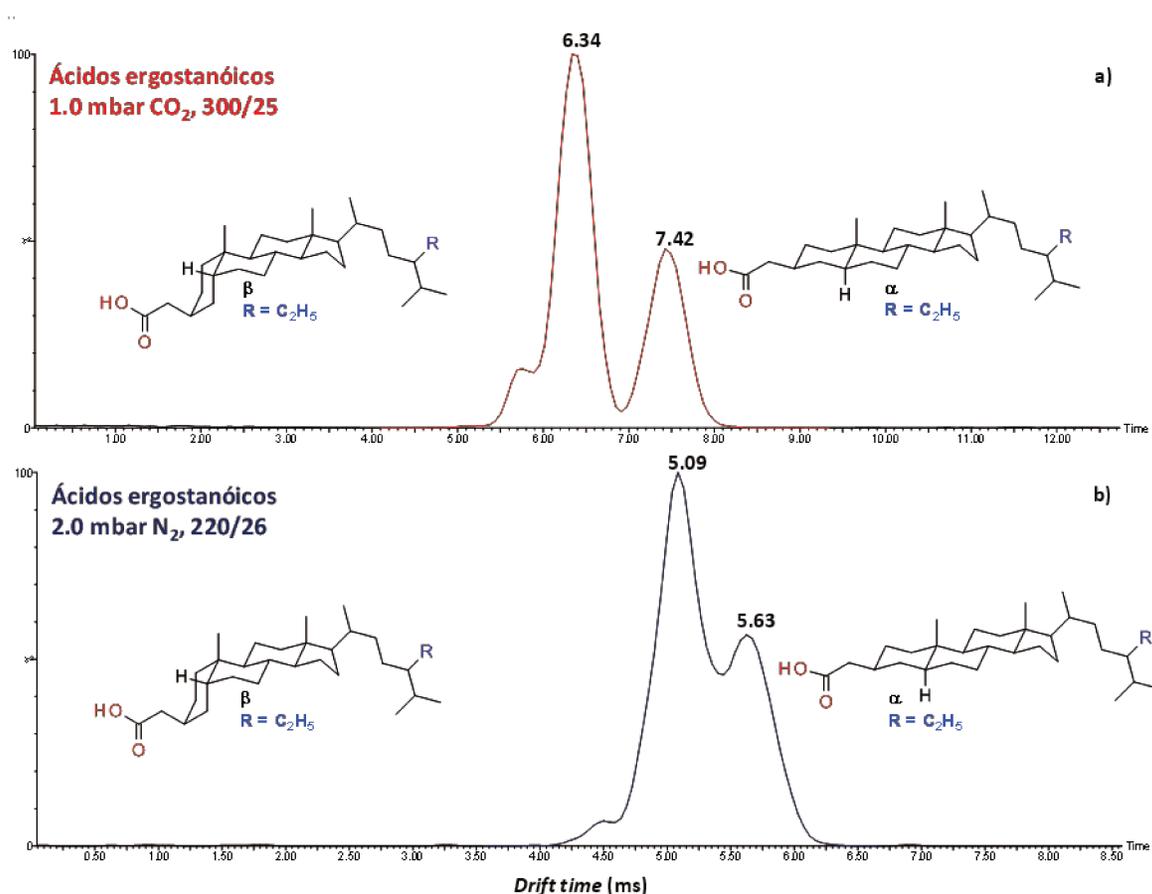


Figura 5.14. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a mistura do ácidos α e β ergostanólicos ($\text{R} = \text{etil}$). Condições de análise: **a)** 1,0 mbar de CO_2 , velocidade da onda 300 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ e altura 25 V. **b)** 2,0 mbar de N_2 , velocidade da onda 220 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ e altura 26 V.

Mobilidade iônica de cortes de destilação e amostras de petróleo

A **Figura 5.15** mostra o espectro de massas com o perfil de sinais típicos para uma amostra de petróleo analisada por ESI (-) TWIM-MS.

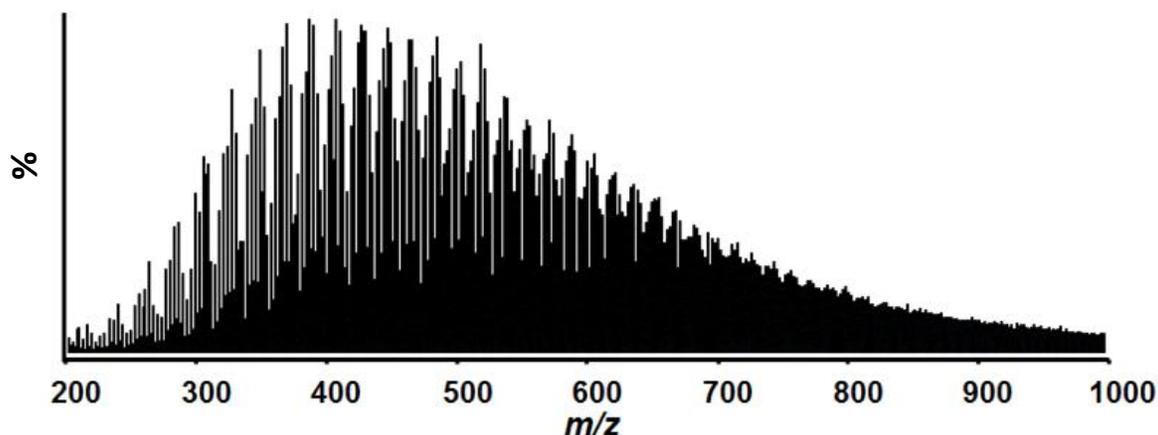


Figura 5.15. Espectro de massas típico (*full scan*) para uma amostra de petróleo utilizando Synapt TWIM-MS HDMS (Waters Corp.) por ESI (-).

Inicialmente foram analisadas duas amostras de cortes de destilação de petróleo. Na **Figura 5.16**, tem-se o padrão de mobilidade em relação a m/z , para o corte de destilação 1, que mostra a relação entre o aumento da DBE e a redução de *drift time* para ácidos carboxílicos lineares (DBE 1) e ácidos naftênicos (DBE 2, 3 e 4).

A **Figura 5.17** mostra a mesma tendência para o corte de destilação 2. Os ácidos carboxílicos lineares (DBE 1) apresentam seções de choque maiores, portanto, *drift time* maiores, que seus análogos cíclicos (ácidos naftênicos) de DBE 2 e 3.

Estes resultados concordam com o efeito do incremento de DBE nas comparações de ácidos lineares vs cíclicos com distintos níveis de aromatização, apresentados nas sessões anteriores.

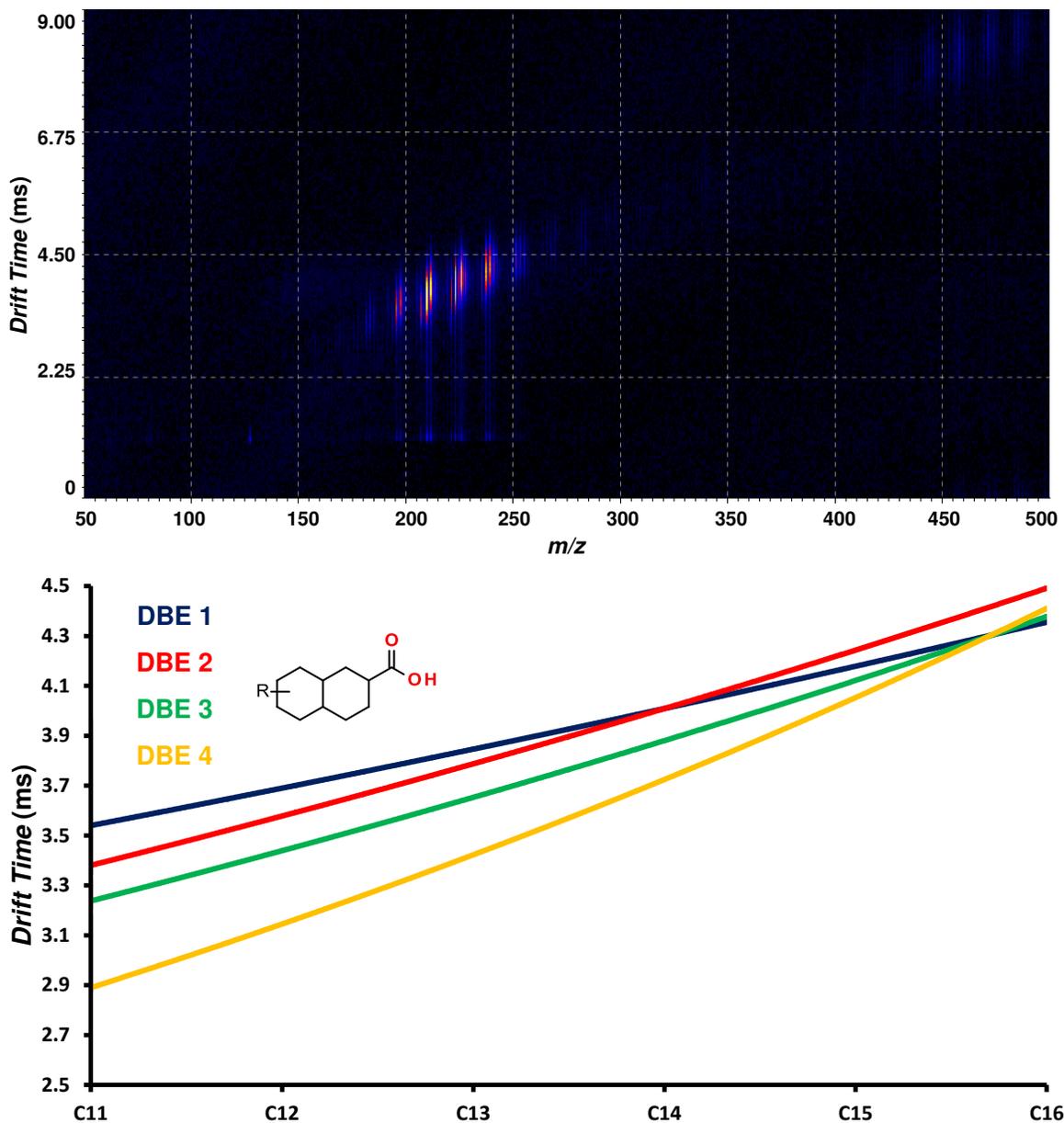


Figura 5.16. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a fração ácida do corte de destilação 1 utilizando 1,2 mbar de CO_2 , velocidade da onda $300 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ e altura 25 V. O gráfico de *drift time* vs número de carbono evidencia a tendência da diminuição do *drift time* com o aumento da DBE.

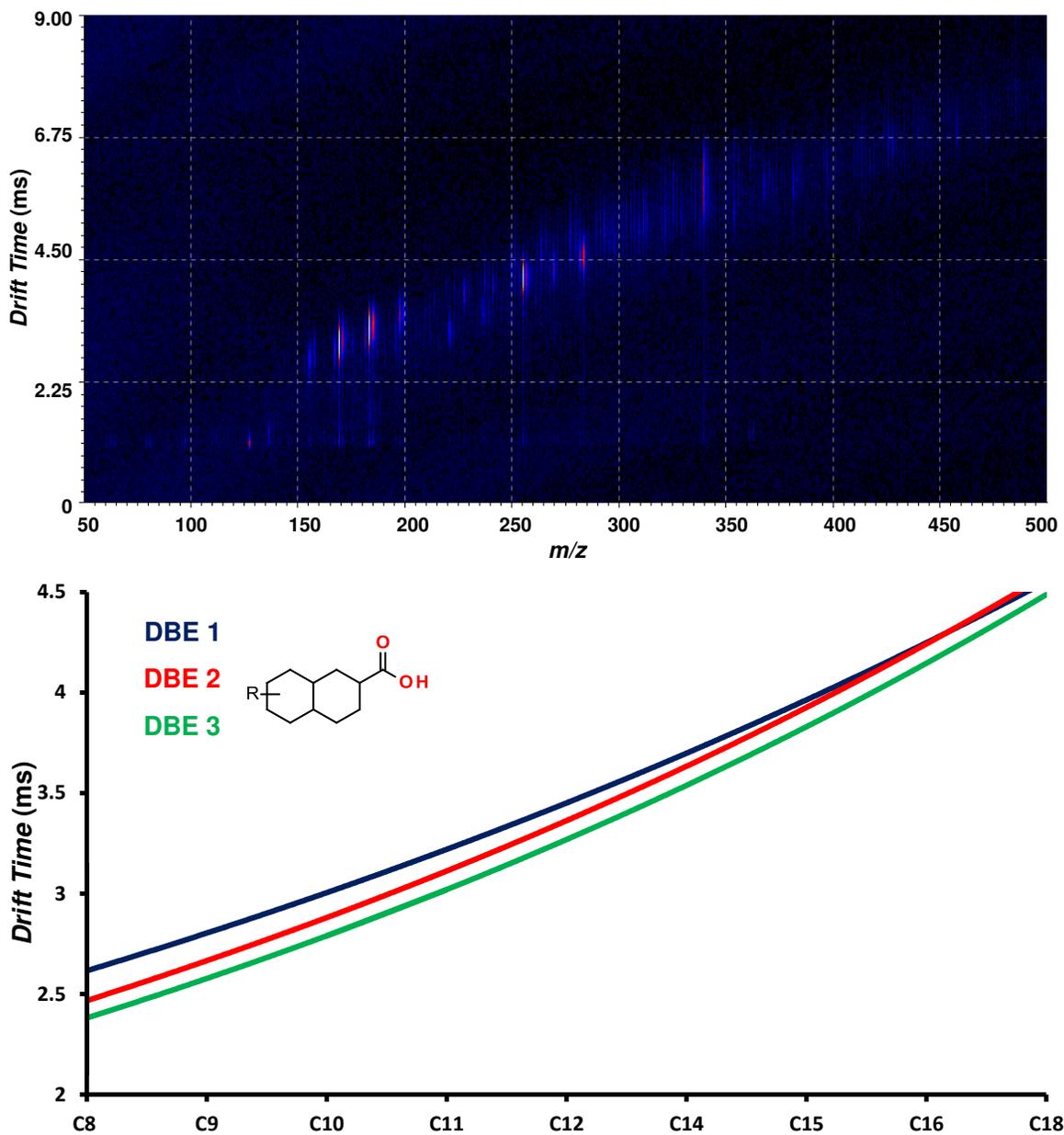


Figura 5.17. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a fração ácida do corte de destilação 2 utilizando 1,0 mbar de CO_2 , velocidade da onda $300 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ e altura 25 V. O gráfico de *drift time* vs número de carbono evidencia a tendência da diminuição do *drift time* com o aumento da DBE.

A Figura 5.18 mostra a diferença do padrão de mobilidade iônica da Classe O_2 em relação a Classe N. Pela análise do *drift scope* pode-se perceber que a Classe O_2 é muito mais abundante que a Classe N na amostra de Petróleo A.

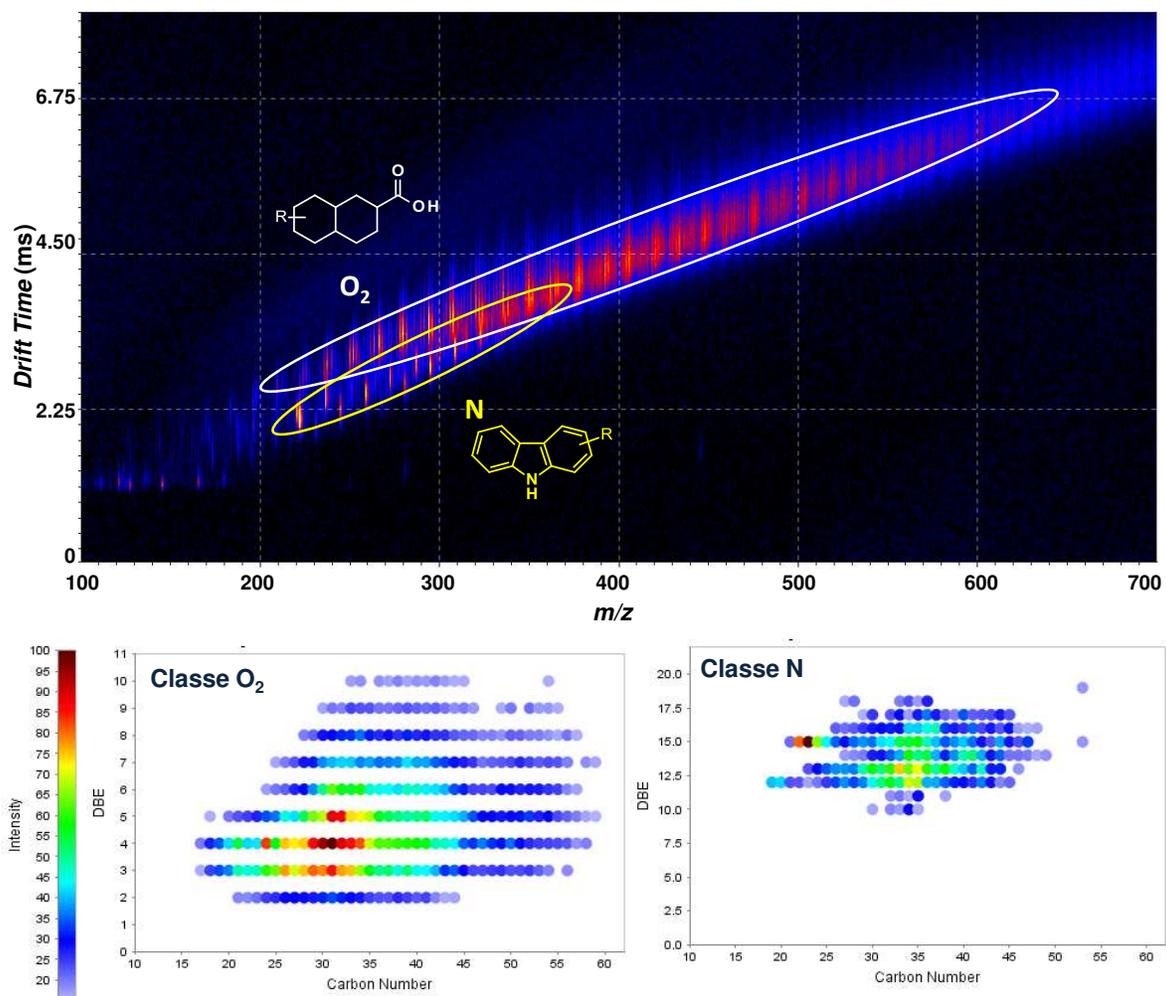


Figura 5.18. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo A utilizando 1,0 mbar de CO_2 , velocidade da onda $300\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ e altura 25 V. As áreas marcadas indicam a mobilidade para a Classe O_2 e para a Classe N. Os gráficos de número de carbono vs DBE representam as distribuições destas classes avaliadas por ESI (-) FT-ICR MS.

A **Figura 5.19** mostra os resultados da análise da amostra de Petróleo B por mobilidade iônica. Esta amostra é mais rica em compostos heteroaromáticos da Classe N.

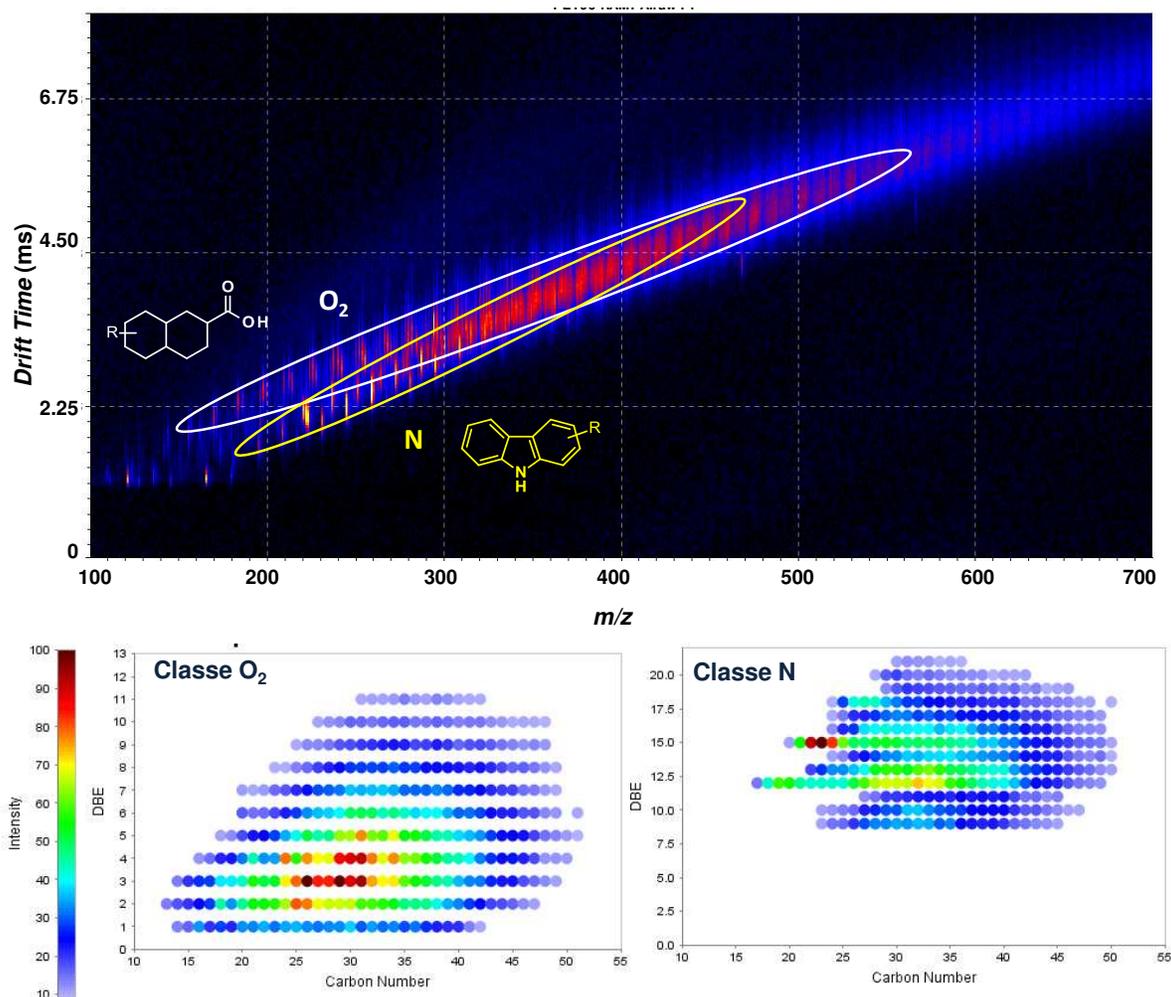


Figura 5.19. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo B utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 300 m·s⁻¹ e altura 25 V. As áreas marcadas indicam a mobilidade para a Classe O₂ e para a Classe N. Os gráficos de número de carbono vs DBE representam as distribuições destas classes avaliadas por ESI (-) FT-ICR MS.

As **Figuras 5.20** e **5.21** mostram a visualização de um padrão de mobilidade bem distinto das Classe O₂ e N, para os Petróleos C e D. A análise das razões *m/z* desta região e sua comparação com os resultados de FT-ICR MS

indicam a distribuição da mobilidade iônica para a Classe NO, menos abundante que as Classes O₂ e N.

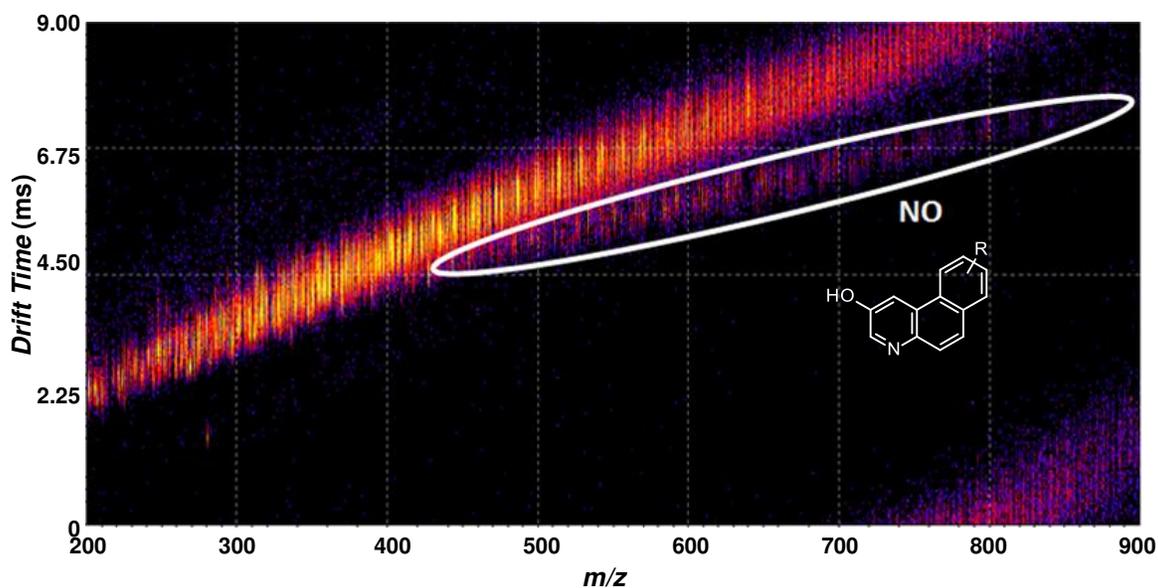


Figura 5.20. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo C utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V. A área marcada indica a mobilidade para a Classe NO.

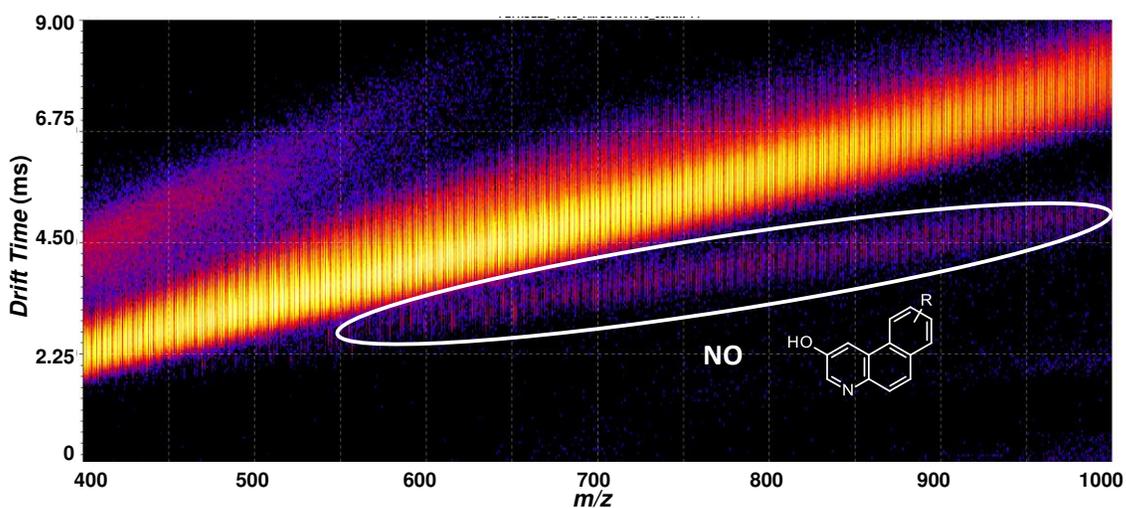


Figura 5.21. Mobilidade por ESI (-) TWIM-MS para a amostra de Petróleo D utilizando 1,0 mbar de CO₂, velocidade da onda 450 m·s⁻¹ e altura 30 V. A área marcada indica a mobilidade para a Classe NO.

5.5. CONCLUSÕES

A espectrometria de massas acoplada a mobilidade iônica fornece uma nova dimensão na caracterização de amostras de petróleo e frações. Ácidos carboxílicos de interesse para a indústria do petróleo (naftênicos, poliaromáticos e biomarcadores) podem ser analisados diretamente por ESI (-) TWIM-MS fornecendo informações adicionais sobre as estruturas, devido as diferenças de seção de choque (decorrentes das diferenças na conformação, presença de isômeros e diferenças de massa molecular). O presente trabalho consiste na primeira aplicação de ESI (-) TWIM-MS na identificação de classes de compostos polares presentes no petróleo através de padrões de mobilidade característicos para as Classes O₂, N e NO. O emprego da mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas na análise de petróleo e derivados é promissor e complementa as análises de altíssima resolução obtidas por FT-ICR MS.

5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, A.; Cho, Y.J.; No, M.; Koh, J.; Tomczyk, N.; Giles, K.; Yoo, J.S.; Kim, S. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 77-83.
- Becker, C.; Qian, K.; Russell, D.H. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 8592–8597.
- Bohrer, B.C.; Mererbloom, S.I.; Koeniger, S.L.; Hilderbrand, A.E.; Clemmer, D.E. *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2008**, *1*, 293-327.
- Clemmer, D.E.; Hudgins, R.R.; Jarrold, M.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10141.
- Cohan, M.J.; Karasek, F.J. *J. Chromatogr. Sci.* **1970**, *8*, 330.
- Comisarow, M.B.; Marshall A.G. *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *25*, 282.
- De Lima, S.G.; Steffen, R.A.; Reis, F.A.M.; Koike, L; Santos-Neto, E.V.; Cerqueira, J.R.; Lopes, J.A.D. *Organic Geochem.* **2010**, *41*, 325-339.
- Fernandez-Lima, F.A.; Becker, C.; McKenna, A.M.; Rodgers, R.P.; Marshall, A.G.; Russell, D.H. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 9941-9947.
- Hoaglund-Hyzer, C. S.; Counterman, A. E.; Clemmer, D. E. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3037–3079.

Kanu, A.B.; Dwivedi, P.; Tam, M.; Matz, L.; Hill, H.H.Jr.; *J. Mass Spectrom.* **2008**, *43*, 1-22.

Lalli, P.M. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química, UNICAMP. 2010.

Lalli, P.M.; Iglesias, B.A.; Deda, D.K.; Toma, H.E.; de Sa, G.F.; Daroda, R.J.; Araki, K.; Eberlin, M.N. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, *26*, 263-268.

Marshall, A.G.; Hendrickson, C.L.; Jackson, G.S. *Mass Spectrom. Rev.* **1998**, *17*, 1-35.

Marshall, A.G.; Rodgers, R.P. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 53-59.

Ruotolo, B.T.; Tate, C.C.; Russell, D.H. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2004**, *15*, 870-878.

Schaub, T.M.; Hendrickson, C.L.; Horning, S.; Quinn, J. P.; Senko, M.W.; Marshall, A. G. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3985-3990.

Stach, J.; Baumbach, J.I. *Int. J. Ion Mobility Spectrom.* **2002**, *5*, 1-21.

von Helden, G.; Wyttenbach, T.; Bowers, M. T. *Science*; **1995**, *267*, 1483-1485.

CAPÍTULO 6

Aplicações da Espectrometria de Massas de Altíssima Resolução e da Mobilidade Iônica Acoplada a Espectrometria de Massas em Estudos de Geoquímica Orgânica

6.1. CONCLUSÕES GERAIS

O uso de FT-ICR MS utilizando poder de resolução de 400.000@400 e aquisições com 100 *μscans* mostrou-se ideal nas análises de amostras altamente complexas como petróleo e derivados.

FT-ICR MS também mostrou-se útil na análise dos compostos polares de outras matrizes complexas como folhelho e carvão mineral. Comparando os resultados dos perfis de compostos polares de algumas amostras de petróleo com a fração orgânica das amostras de folhelho e de carvão mineral pode-se observar uma maior abundância das classes NO e NO₂ nestas amostras. A maior abundância destas classes pode explicar a origem e a deposição a baixas profundidades do folhelho e carvão mineral, indicando pouco efeito de temperatura e pressão na sua gênese. O carvão mineral, formado pela matéria vegetal rica em celulose e lignina, apresenta várias classes oxigenadas (O₂, O₃, O₄, O₅, O₆) como reflexo da sua origem.

FT-ICR MS fornece uma análise rápida e abrangente na caracterização de petróleo, dispensando pré-tratamentos ou pré-separações das amostras. Pode ser aplicada com vantagens em metodologias analíticas de rotina para análise de petróleo bruto e seus derivados. A técnica oferece respostas rápidas e indicações de parâmetros geoquímicos essenciais que auxiliam na otimização de processos de refino e exploração. As análises da Classe O₂ das amostras brutas de petróleo por FT-ICR MS substituem com sucesso as análises de frações ácidas efetuadas por FAB-MS, podendo ser implementadas como rotina no CENPES – PETROBRAS.

Neste trabalho também comparou-se a análise por FT-ICR com um novo analisador TOF que atinge poder de resolução de 100.000, baseado na multireflexão dos íons. Os resultados aqui apresentados demonstram que o UHRT apresenta resolução e exatidão suficientes para análises das classes majoritárias de compostos polares por MS *fingerprint* de amostras de petróleo e cortes de destilação de maneira rápida e a custo muito inferior, se comparado com o custo do FT-ICR e sua manutenção, principalmente quanto ao consumo de hélio líquido. Desta maneira UHRT MS, pode servir para a análise de rotina tanto no acompanhamento dos processos da indústria petrolífera, como na remoção de classes de heteroátomos de cortes de destilação, e também nos estudos petroleômicos. Esta é a primeira geração de TOF com multireflexão e 100.000 de poder de resolução e em teoria pode chegar a 200.000 (Verentchikov *et al.* 2005). O UHRT com 200.000 de poder de resolução seria superior ao FT-ICR MS 400.000@400 acima da m/z 800 e ainda teria um custo inferior, tornando-se não só um equipamento atraente para as pesquisas acadêmicas, quanto para a rotina de análises da indústria petrolífera.

Além das aplicações da espectrometria de massas de altíssima resolução e exatidão na análise de matrizes complexas como petróleo conclui-se que a espectrometria de massas acoplada a mobilidade iônica fornece uma nova dimensão na caracterização de amostras de petróleo e frações. Ácidos carboxílicos de interesse para a indústria do petróleo (naftênicos, poliaromáticos e biomarcadores) podem ser analisados diretamente por ESI (-) TWIM-MS, fornecendo informações adicionais sobre as estruturas, devido as diferenças de seção de choque (decorrentes das diferenças na conformação, presença de isômeros e diferenças de massa molecular). O presente trabalho consiste na primeira aplicação de ESI (-) TWIM-MS na identificação de classes de compostos polares presentes no petróleo através de padrões de mobilidade característicos para as Classes O₂, N e NO. O emprego da mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas na análise de petróleo e derivados é promissor e complementa as análises de altíssima resolução obtidas por FT-ICR MS e por UHRT MS.