



UFG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Novas abordagens na caracterização de petróleos por
espectrometria de massas FT-MS**

Denys Ribeiro de Oliveira Costa

Orientador: Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz

Goiânia
2019

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS
DE TESES E
DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Denys Ribeiro de Oliveira Costa

Título do trabalho: Novas abordagens na caracterização de petróleo por espectrometria de massas FT-MS.

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 15/02/2019.

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente
- Submissão de artigo em revista científica
- Publicação como capítulo de livro
- Publicação da dissertação/tese em livro

²A assinatura deve ser escaneada.

Novas abordagens na caracterização de petróleos por espectrometria de massas FT-MS

Denys Ribeiro de Oliveira Costa

Dissertação submetida à
Universidade Federal de
Goiás, como parte
integrante dos requisitos
necessários à obtenção
do Grau de Mestre em
Química.

Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz

Goiânia
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Ribeiro de Oliveira Costa, Denys

Novas abordagens na caracterização de petróleos por espectrometria
de massas FT-MS [manuscrito] / Denys Ribeiro de Oliveira Costa. -
2019.

LXVII, 67 f.

Orientador: Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto
de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2019.

1. Orbitrap MS. 2. ESI. 3. SPE. 4. Fenóis. I. Gontijo Vaz, Boniek,
orient. II. Título.

CDU 54



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ-IQ)

Ata da defesa de Dissertação de Mestrado de Denys Ribeiro de Oliveira Costa, aluno regularmente matriculado no Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aos dias 15 (quinze) de fevereiro do ano de 2019 (dois mil e dezenove), com início às 14:00 hrs no Instituto de Química da UFG, reuniu-se a Banca Examinadora designada pela Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação em Química da UFG, composta pelos seguintes doutores: Boniek Gontijo Vaz (UFG), Christian Gonçalves Alonso (UFG) e Lucilia Kato (UFG), sob a presidência do primeiro, para julgar a dissertação de Denys Ribeiro de Oliveira Costa intitulada: "Novas abordagens na caracterização de petróleos por espectrometria de massas FT-MS". O presidente da Banca Examinadora abriu a sessão prestando esclarecimentos sobre os trâmites da avaliação e, em seguida, passou a palavra ao candidato para que o mesmo fizesse uma exposição do seu trabalho. Terminada a exposição, o candidato foi arguido pelos membros da Banca Examinadora e, após as arguições, foi determinado um intervalo de tempo para que a banca, em sessão fechada, procedesse ao julgamento do trabalho. O resultado do julgamento foi o seguinte:

Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz: Aprovado

Prof. Dr. Christian Gonçalves Alonso: Aprovado

Prof. Dra. Lucilia Kato: Aprovado

A seguir, na presença do público e do candidato, o presidente da Banca Examinadora declarou que Denys Ribeiro de Oliveira Costa, candidato ao título de Mestre em Química foi: Aprovado (X); Reprovado (). Este resultado deverá ser homologado pela Coordenadoria de Pós-Graduação do Programa de Pós-Graduação em Química do IQ/UFG. Nada mais havendo a tratar, o senhor presidente cumprimentou o candidato e encerrou os trabalhos. E para constar, eu, Themerson Blenner Cavalcante Souza, lavrei a presente ata que segue assinada pelos membros da banca examinadora. Goiânia, 15 de fevereiro de 2019.


Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz (UFG)


Prof. Dr. Christian Gonçalves Alonso (UFG)


Prof. Dra. Lucilia Kato (UFG)

A meus pais, Ana Maria e Ivanildo, por tudo que fizeram para que eu chegasse até aqui e também por não me deixar desistir dos meus sonhos. Muito obrigado, amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela constante presença em minha vida.

Aos meus pais e minha irmã Denise, pelo carinho, amor, força, incentivo, auxílio em todos os momentos que foi preciso e por tudo que me ensinaram.

Ao meu orientador Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz, por não medir esforços para garantir um laboratório com uma excelente infraestrutura garantindo uma formação sólida a nós alunos, por sua orientação, seus conhecimentos, incentivos, confiança e credibilidade depositada em minha pessoa.

Aos membros da banca professor Dr. Christian Alonso e professora Dra. Lucília Kato por aceitarem participar da banca de mestrado e pelas suas colaborações, corroborando para o enriquecimento dessa pesquisa.

Aos meus amados avós maternos José e Maria e paternos Lazara e Laudelino (*in memoriam*), que sempre me passaram um extremo carinho, sabedoria, amor e respeito ao próximo.

A minha madrinha Sandra e meu tio Edinilson, pelo carinho, auxílio e suporte.

A meu tio Divino e tia Cida, que quando tive que me mudar para Goiânia me deram apoio, casa e inúmeros incentivos aos meus objetivos.

A minha namorada Yôsnireni, pelo apoio, amor, carinho e motivação nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos que sempre estiveram presentes nos momentos de luta, comemorações, derrotas e vitórias.

Aos meus amigos do laboratório LaCEM, pelos inúmeros conhecimentos compartilhados.

Ao CENPES - Centro de Pesquisa da Petrobras por fornecer as amostras de estudo.

A Capes pelo apoio financeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Química do IQ-UFG.

A todos que de alguma forma contribuiu para que este trabalho se concretizasse, muito obrigado.

“O sucesso na vida depende unicamente de insistência e ação”.
(Goethe)

“A mente criativa brinca com os objetos que ama”.
(Carl Jung)

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”.
(Cora Coralina)

“Pensa! O pensamento tem poder.
Mas não adianta só pensar.
Você também tem que dizer!
Diz! Porque as palavras têm poder.
Mas não adianta só dizer.
Você também tem que fazer!
Faz! Porque você só vai saber se o final vai ser feliz depois que tudo acontecer”.
(Gabriel Pensador)

Deus é tudo!
Deus é o que tenho!
Então, tenho tudo!
(Denys Costa)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiv
SÍMBOLOS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Espectrometria de Massas	1
1.2. Ionização por <i>Electrospray</i> (ESI)	3
1.3. FTMS – Espectrometria de massas por transformada de Fourier	4
1.3.1. FT-ICR MS	5
1.3.2. Orbitrap MS	7
1.4. Análises de misturas orgânicas complexas	9
1.4.1. Petroleômica e suas abordagens	9
1.4.2. Ferramentas gráficas para interpretação de dados em Petroleômica	12
2. OBJETIVO	16
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1. LAVAGEM DE VIDRARIA	18
3.2. AMOSTRAS E REAGENTES	18
3.3. FRACIONAMENTO POR CARTUCHOS (SPE) PARA PETRÓLEOS	18
3.4. ANÁLISE PELA TECNOLOGIA ESI(-) ORBITRAP MS	19
3.5. FRACIONAMENTO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS EM FUNÇÃO DA MASSA MOLECULAR	19

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
4.1. Análises de petróleos pela tecnologia Orbitrap MS e utilização de ferramentas gráficas para interpretação de dados.....	24
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	41
6. REFERÊNCIAS	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema ilustrativo dos componentes básicos de um espectrômetro de massas.....	2
Figura 2 - Ilustração esquemática de uma fonte de ionização por electrospray (Adaptado de NANOTECHNOLOGY SOLUTIONS, 2013).....	3
Figura 3 - Esquema do funcionamento de um FT-ICR (Dalmaschio, 2012). ...	6
Figura 4 - (A) Cortes de um padrão (superior) e um alto campo (inferior) analisador Orbitrap MS (ZUBAREV e MAKAROV, 2013). (B) Ilustração esquemática do analisador de massas Orbitrap, demonstrando as três orbitas envolvidas, frequência de rotação $\omega\phi$, frequência de oscilação radial ωr e frequência de oscilação axial ωz (MAKAROV et al., 2009).....	8
Figura 5 – (A) Representação esquemática de um C-Trap e do analisador Orbitrap, demonstrando a focalização e armazenamento dos íons (Adaptado de MAKAROV et al., 2013).	9
Figura 6 - Ilustrações de compostos oxigenados encontrados no petróleo (SPEIGHT, 2001). O R: são hidrocarbonetos alifáticos de inúmeros tamanhos.	11
Figura 7 - (I) Histograma demonstrando as classes identificadas na amostra de petróleo, (II) distribuição dos compostos em relação ao DBE para classe O2 e (III) Número de carbono total para a classe O2.....	13
Figura 8 - Gráfico de número de carbono vs. DBE de uma amostra de petróleo adquirido pela tecnologia ESI(-) Orbitrap MS.....	14
Figura 9 - Fracionamento por gradiente de solventes para extrair compostos fenólicos de alto peso molecular.	21
Figura 10 - Ilustração do sorvente utilizado na extração via SPE (sílica propilamina) para extração dos compostos fenólicos de alto peso molecular. Fonte: Phenomenex 2017.	22
Figura 11 - Espectro de massas ESI(-) Orbitrap do petróleo J e de suas frações obtidas pelo método de SPE.....	25
Figura 12 - Razão O/O2 para as amostras de petróleos A-F.	27
Figura 13 - Espectros de massas ESI(-) Orbitrap para os petróleos A, B, C, D, E e F e suas respectivas frações obtidas pelo método de SPE.	29

Figura 14 - Histogramas de classes detectadas no fracionamento por gradiente de solventes utilizando SPE para as amostras de A à F.....	31
Figura 15 - Distribuição relativa das classes de compostos obtidas por ESI(-) Orbitrap MS das amostras e seus respectivos fracionamentos resultantes da extração via SPE.....	32
Figura 16 - Histogramas de DBE vs. intensidade relativa plotados para classe O. Do lado esquerdo amostras (A, B e C) do lado direito amostras (D, E e F).	33
Figura 17 - Histogramas de DBE vs. intensidade relativa plotados para classe O. Do lado esquerdo os fracionamentos (A, B e C)n do lado direito (D, E e F)n. O n corresponde ao número de cada fracionamento.	34
Figura 18 - Estruturas moleculares propostas para os compostos fenólicos identificados nas amostras em estudo, variando a amplitude de DBE de 4-13.	35
Figura 19 - Soma da razão dos DBE 4 e 5 dividido pelo DBE 6 ou maior, para cada uma das seis amostras em estudo.	36
Figura 20 - Gráficos de DBE vs. NC para classe O, detectados nas amostras do grupo 1 e 2, pela tecnologia ESI(-) Orbitrap.	38
Figura 21 - Diagrama do número de carbono total versus a intensidade relativa da classe O, obtida pela tecnologia ESI(-) Orbitrap MS.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise elementar média do petróleo (% em peso).	10
Tabela 2 - Propriedades físico-químicas dos petróleos analisados por Pereira et al., (2014).	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AN - Ácidos naftênicos

ASMS – do inglês, *American Society for Mass Spectrometry*

ASTM – do inglês, *American Society for Testing and Materials*

DBE – do inglês, *Double Bond Equivalent*

DC – do inglês, *Direct Current*

DCM – Diclorometano

EI – do inglês, *Electron Ionization*

ESI – do inglês, *Electrospray Ionization*

FT-ICR MS - Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier
(do inglês, *Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*)

HPLC – do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*

MCR - Modelo de carga residual

MEI - Modelo de evaporação de íons

MeOH – Metanol

MS – do inglês, *Mass Spectrometry*

m/z – Massa-sobre-carga

NC – Número de carbono

ppm – Parte por milhão

pH - Potencial hidrogeniônico

PM – Peso molecular

RF – Radiofrequência

SPE – do inglês, *Extraction Phase Solid*

TAN – do inglês, *Total Acid Number*

TOF – do inglês, *Time-Of-Flight*

TOL – Tolueno

SÍMBOLOS

A/O – Água/Óleo

% - Porcentagem

B – Campo magnético

Cl - Cloro

Da – Dalton

K – Potássio

m – Massa

mg – Miligrama

mL - Mililitro

Na – Sódio

N – Nitrogênio

O – Oxigênio

q – Carga

S - Enxofre

$\omega\phi$ - Frequência de rotação

ω_r - Frequência de oscilação radial

ω_z - Frequência de oscilação axial

ω_c – Frequência ciclôtrônica

RESUMO

O desempenho do analisador de massas de ultra-alta resolução Orbitrap MS foi avaliado no estudo de petróleos brasileiros. As características avaliadas foram: poder de resolução e precisão de massas, durante a caracterização de amostras de baixo TAN – (*Total Acid Number*), em seis amostras de petróleos. Ademais, objetivou-se a detecção de compostos fenólicos em petróleos, classe O, associada à estabilização de emulsões. Foram estudados os compostos fenólicos caracterizando-os por distribuição em porcentagem de classes, DBE vs intensidade relativa, DBE vs número de carbono e carbono total vs intensidade relativa. O estudo foi realizado pelo acoplamento da fonte de ionização *Electrospray*, modo de análise negativo, ESI(-), com o analisador de massas Orbitrap MS. Os petróleos estudados foram divididos em dois grupos, sendo o grupo 1 que formam emulsões e o grupo 2 que não formam emulsões. Os espectros de massas dos petróleos e dos respectivos fracionamentos variaram a razão m/z ~200-1200 Da. As classes majoritárias encontradas nas amostras de petróleos foram: N, NO, NO₂, NO₃, O e O₂. Sendo que, a classe O, de suma importância neste estudo apresentou distribuição de DBE variando de 4 a 13. As espécies predominantes nos seis petróleos foram de (DBE 4) correspondendo a fenóis monoaromáticos, compostos aromáticos condensados com um anel (DBE 5) e dois anéis naftênicos (DBE 6). Foram também detectadas moléculas fenólicas di-, tri- e tetra-aromáticas (DBE 7, 10 e 13, respectivamente). Por fim, através do fracionamento com SPE, foi possível ionizar e detectar moléculas fenólicas com alto número de carbono ~C₈₀. Portanto, com a identificação desses compostos de alto peso molecular que possuem longas cadeias carbônicas, que atuam como agentes interfaciais e alinham com as parafinas presente nos petróleos, esse fenômeno, justifica a formação de emulsões estáveis.

Palavras-chave: Orbitrap MS, ESI, SPE e fenóis.

ABSTRACT

The performance of the Orbitrap MS ultra-high-resolution mass analyzer was evaluated in the Brazilian petroleum study. The characteristics evaluated were: power of resolution and mass accuracy, during the characterization of samples of low TAN - (Total Acid Number), in six samples of oils. In addition, the objective was the detection of phenolic compounds in oils, class O, associated to the stabilization of emulsions. The phenolic compounds were studied, characterized by distribution in percentage of classes, DBE vs relative intensity, DBE vs carbon number and total carbon vs relative intensity. The study was performed by coupling the Electrospray ionization source, negative analysis mode, ESI(-), with the mass analyzer Orbitrap MS. The studied oils were divided into two groups, group 1 being emulsions and group 2 being non-emulsifying. The mass spectra of the oils and the respective fractions varied the ratio $m/z \sim 200-1200$ Da. The major classes found in the oil samples were: N, NO, NO₂, NO₃, O and O₂. The predominant species in the six oils were (DBE 4) corresponding to monoaromatic phenols, aromatic compounds condensed with a ring (DBE 5), and two naphthenic rings (DBE 6). Di-, tri- and tetra-aromatic phenolic molecules (DBE 7, 10 and 13, respectively) were also detected. Finally, through SPE fractionation, it was possible to ionize and detect phenolic molecules with high $\sim C_{80}$ carbon numbers. Therefore, with the identification of these compounds of high molecular weight that have long carbon chains, which act as interfacial agents and align with the paraffins present in the oils, this phenomenon, justifies the formation of stable emulsions.

Key-words: Orbitrap MS, ESI, SPE and phenols.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. Espectrometria de Massas

A espectrometria de massas (MS, do inglês – *Mass Spectrometry*) é uma técnica analítica que proporciona informações sobre a massa molecular e características estruturais de um analito. Esta determinação pode ser realizada a partir de compostos isolados ou em misturas complexas, na forma iônica em estado gasoso, sendo os íons, previamente, gerados por alguma fonte de ionização (GROSS, 2004). Características exclusivas da MS incluem sua capacidade de determinar diretamente a massa-sobre-carga (m/z) de um analito, produzir e detectar fragmentos da(s) molécula(s). A MS tem a capacidade de gerar informações estruturais por quantidade unitária de um analito mais que qualquer outra técnica analítica (WATSON; SPARKMAN, 2007).

Atualmente, esta técnica tem uma ampla aplicação em vários campos da ciência, tornando-se indispensável em várias frentes da descoberta científica. Na química analítica, as aplicações são principalmente orientadas para problemas bioquímicos, como proteômica, metabolômica, na descoberta de drogas e metabólitos (HOFFMANN; STROOBANT, 2007). Outras aplicações analíticas são direcionadas ao controle de poluição (SCHYMANSKI et al., 2014), controle de alimentos (MONTOWSKA et al., 2015), ciência forense (PAVLOVICH; MUSSELMAN; HALL, 2018), produtos naturais (DEMARQUE et al., 2016), cinética de reação (LEE et al., 2015), geocronologia (IRELAND, 2013), análise química inorgânica (CODY; DANE, 2014), reações íon-molécula (BENASSI; GARCIA-REYES; SPENGLER, 2013), determinação de parâmetros termodinâmicos (GULBAKAN; BARYLYUK; ZENOBI, 2015), petroleômica (BARROS et al., 2018) e muitas outras.

A figura 1 ilustra um esquema geral de uma análise por MS: (1) introdução da amostra no espectrômetro de massas; (2) ionização das moléculas ou acúmulo de íons em estado gasoso; (3) separação dos íons de acordo com suas razões m/z através de um ou mais analisadores de massas; (4) detecção dos íons oriundos do analisador através da conversão dos íons em um sinal elétrico; (5) processamento do sinal elétrico através de um

computador integrado que transforma o sinal elétrico recebido em um espectro de massas (HOFFMANN; STROOBANT, 2007).

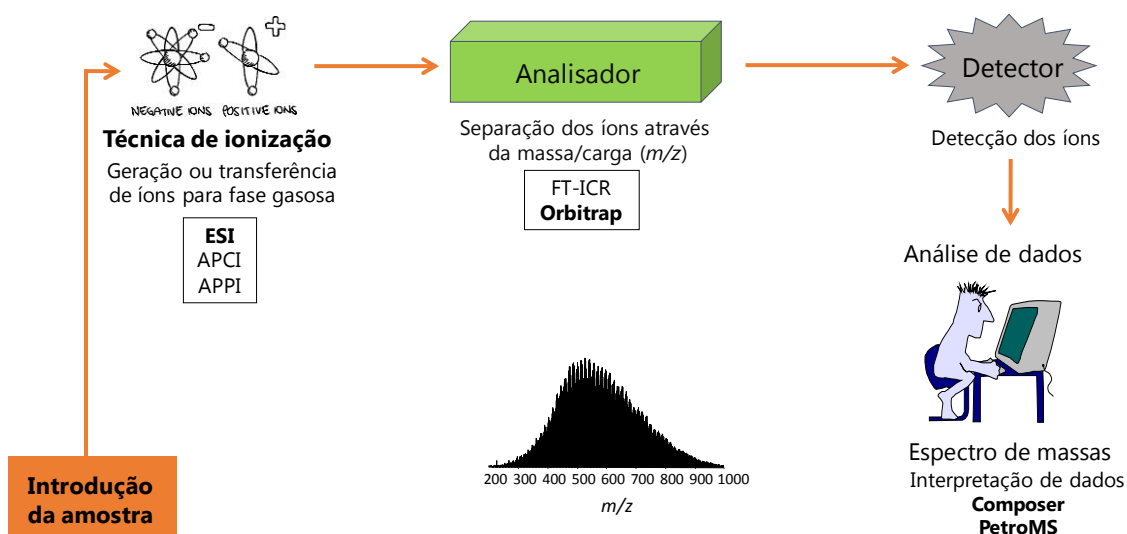


Figura 1 - Esquema ilustrativo dos componentes básicos de um espectrômetro de massas.

A ionização é uma etapa chave em espectrometria de massas. O método de ionização refere-se ao mecanismo de ionização, enquanto a fonte de ionização é o dispositivo mecânico que permite a ionização ocorrer. Atualmente há diferentes métodos de ionização, que podem ionizar moléculas neutras através da remoção de elétrons, captura de elétrons, protonação, desprotonação, cationização, ou transferindo uma molécula carregada de uma fase condensada para a fase gasosa (SIUZDAK, 2004).

A fonte de ionização mais utilizada durante vários anos foi a ionização por Elétrons (EI - *Electron Ionization*), em que o analito gasoso é bombardeado por um feixe de elétrons (70 eV) gerados a partir de um filamento de tungstênio. Esta técnica é adequada para moléculas apolares, voláteis e termicamente estáveis. Embora os espectros de massa sejam muito reproduzíveis e sejam amplamente utilizados por bibliotecas de espectros de massas, o EI causa extensa fragmentação, de modo que o íon molecular não é observado para muitos compostos (WATSON; SPARKMAN, 2007). Além disso, o EI apresenta limitações nas análises de macromoléculas, compostos não voláteis e termicamente lábeis. Devido a isto, pesquisadores trabalharam no desenvolvimento de novas fontes de ionização que permitem que compostos

de alta massa molecular, não voláteis e termicamente instáveis sejam convertidos em um íon em fase gasosa. Dentre estas técnicas, destaca-se a ionização por *Electrospray* (GLISH; VACHET, 2003).

1.2. Ionização por *Electrospray* (ESI)

A ionização por *Electrospray* (ESI - *Electrospray Ionization*) é uma fonte de ionização branda, ou seja, que não gera fragmentação como em EI, e consiste na transferência de íons previamente formados em solução para a fase gasosa (FENN et al., 1990); (GASKELL, 1997). A figura 2 ilustra o esquema desta fonte de ionização.

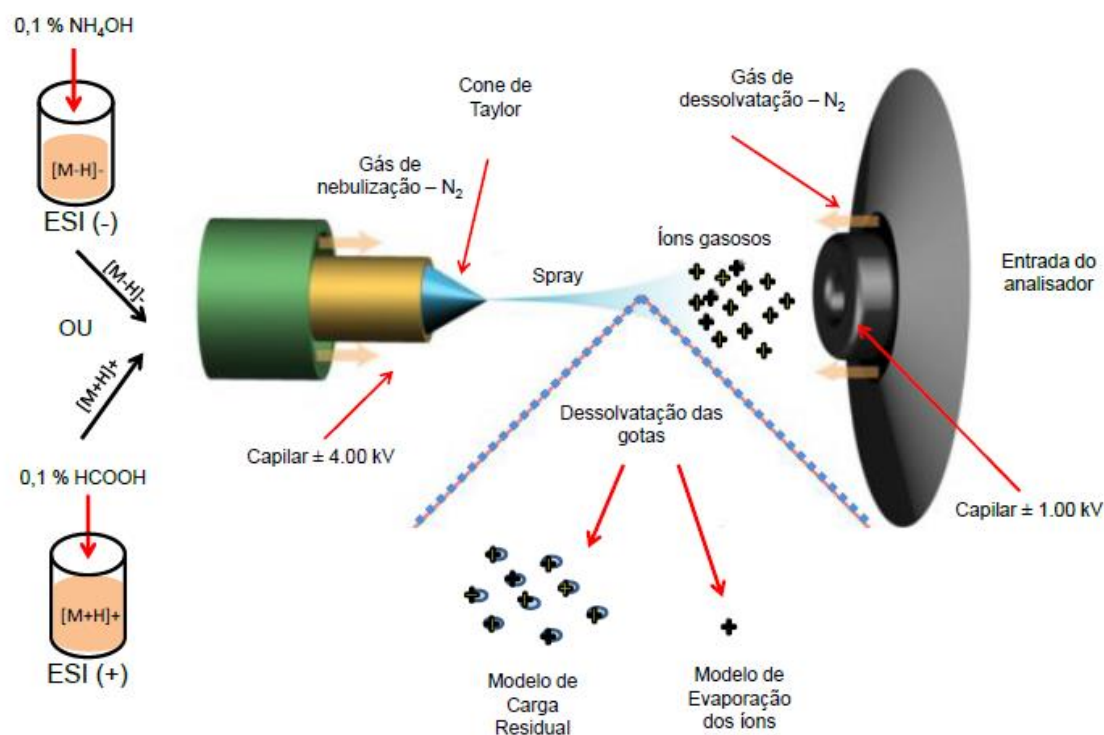


Figura 2 - Ilustração esquemática de uma fonte de ionização por electrospray (Adaptado de NANOTECHNOLOGY SOLUTIONS, 2013).

A transferência de espécies iônicas em solução para a fase gasosa envolve três etapas: (1) os íons são acumulados em solução sob pressão atmosférica, e um potencial elétrico forte é aplicado (1-5 kV) sob o capilar, formando um fino *spray* eletrolítico com acúmulo de carga na saída do cone de Taylor. Em seguida, (2) ocorre a evaporação do solvente através de um gás de

dessolvatação, geralmente N_2 . A dessolvatação reduz o tamanho das gotas aumentando a densidade de carga no interior da gota. Pela repulsão Coulômbica as gotas reduzem de tamanho e os íons são produzidos em fase gasosa por dois mecanismos. Pelo modelo de evaporação de íons (MEI), a concentração de cargas no interior da gota faz com que íons sejam ejetados para fase gasosa. Já no modelo de carga residual (MCR), a gota, por ação da concentração de carga, sofre divisões múltiplas, concomitante evaporação do solvente, até obter-se um íon em fase gasosa. Por fim, ocorre o direcionamento dos íons sob pressão atmosférica para o analisador de massas de alto vácuo no espectrômetro de massas (BRUINS, 1998).

Os três principais mecanismos que ocorrem no ESI são: protonação/desprotonação, oxidação/redução e formação de adutos catiônicos e aniônicos como Na^+ , K^+ e Cl^- , entre outros. A formação dos íons depende do pH do meio reacional. A protonação ocorre em pH levemente ácido com adição de ácido fórmico formando espécies $[M + H]^+$ e a desprotonação em pH levemente básico com adição de hidróxido de amônio formando espécies $[M - H]^-$. Na oxidação/redução são produzidos íons moleculares devido à perda e/ou ganho de elétrons, produzindo assim íons moleculares M^+/M^- . Por fim, os adutos $[M + Na]^+$, $[M + K]^+$ e $[M - Cl]^-$ são formados devido a diversos fins, como por exemplo, o material de fabricação das vidrarias, que são compostas por borossilicato, outro fator é a natureza química do analito, a composição do solvente, presença de tampões ou outras impurezas (MORGADO, 2013).

Sendo assim, a principal vantagem do ESI é análise de moléculas não voláteis, de altas massas moleculares e polares. Já a principal desvantagem é o efeito de supressão iônica, um fenômeno que ocorre quando uma determinada molécula ioniza facilmente e suprime o sinal de outros íons de interesse (ANNESLEY, 2003).

1.3. FTMS – Espectrometria de massas por transformada de Fourier

Assim como os métodos de ionização desempenham um fator importante nas análises por MS, os analisadores de massas também são extremamente essenciais. Dentre os analisadores de massas, o de

Ressonância Ciclotrônica de Íons com Transformada de Fourier (FT-ICR) e o Orbitrap se destacam por fornecer as maiores magnitudes em termos de poder de resolução e exatidão de massas. Em MS, apenas esses dois analisadores podem alcançar esse fato. Os analisadores FT-ICR e Orbitrap superam qualquer outro espectrômetro de massas comumente utilizado em relação à resolução e exatidão de massa rotineiramente alcançável, mesmo para um pequeno número de íons (GHASTE; MISTRICK; SHULAEV, 2016). A exatidão de massa é a razão entre o erro de medição da m/z experimental e a m/z teórica, normalmente citada em partes por milhão (ppm). O poder de resolução de massa é a medida da capacidade de distinguir dois picos de m/z ligeiramente diferente, mas com a massa muito próxima (SCIGELOVA et al., 2011).

Os analisadores FT-ICR e o Orbitrap compartilham certas características, em ambos as informações de m/z são obtidas a partir de medidas de frequências de oscilações de íons. Enquanto no primeiro mede a frequência de oscilação de um íon em um campo magnético, no segundo a frequência é obtida a partir da oscilação do íon em um campo eletrostático. Nos dois analisadores, emprega-se a transformada de Fourier para gerar espectros em domínios de frequência que, por simples equações matemáticas, são transformados em domínio de m/z (SCIGELOVA et al., 2011).

1.3.1. FT-ICR MS

A espectrometria de massas FT-ICR foi desenvolvida na década de 1970 e se destacou por fornecer a obtenção de espectros de massas com ultra-alta resolução e exatidão de massas (COMISAROW; MARSHALL, 1974). Devido à sua ultra-alta resolução, o FT-ICR possibilitou a atribuição de fórmulas moleculares de compostos presentes em amostras complexas, como por exemplo, o petróleo. Com a atribuição de fórmulas moleculares, é possível, por sua vez, agrupar os compostos em relação ao número de heteroátomos (N, S e O), número de insaturações (anéis mais duplas ligações), e também o número de unidades $-CH_2$ para compostos de uma determinada classe (VAZ, 2011).

No FT-ICR, um campo elétrico oscilante atua na delimitação do movimento axial e aceleração dos íons, e um magneto supercondutor cria um campo magnético uniforme de alta intensidade que age sobre os íons, fazendo

com que eles girem em uma órbita circular, em torno do campo, sendo este movimento denominado movimento ciclotrônico dos íons. A Equação 1 demonstra a relação entre a frequência ciclotrônica (ω_c) dos íons com sua razão massa (m) sobre carga (q) sob o efeito de um campo magnético (B) (MARSHALL; HENDRICKSON; JACKSON, 1998):

$$\omega_c = q \cdot B/m \quad \text{Equação 1}$$

A figura 3 ilustra de forma detalhada o funcionamento do FT-ICR. Resumidamente, os íons oriundos da fonte de ionização são confinados na cela de ICR na presença de um campo magnético, que permite que cada íon adquira uma órbita em determinada posição. No entanto, neste exato momento os íons podem apresentar um movimento ciclotrônico desordenado, podendo escapar ao longo dos eixos da cela de ICR, o que torna difícil a detecção de cada um destes íons. Serão detectados apenas os sinais do ICR que apresentarem íons em movimento sincronizado. Ao aplicar uma radiofrequência (RF) externa de magnitude igual à frequência ciclotrônica, o movimento dos íons se torna coerente, ocorrendo, então, a excitação e detecção do sinal gerado pelo íon confinado (KRAJ et al., 2008). Um espectro de domínio de tempo (o sinal do ICR) é obtido e convertido em um espectro de domínio de frequência através da transformada de Fourier e, por fim, este é transformado em um espectro de m/z (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

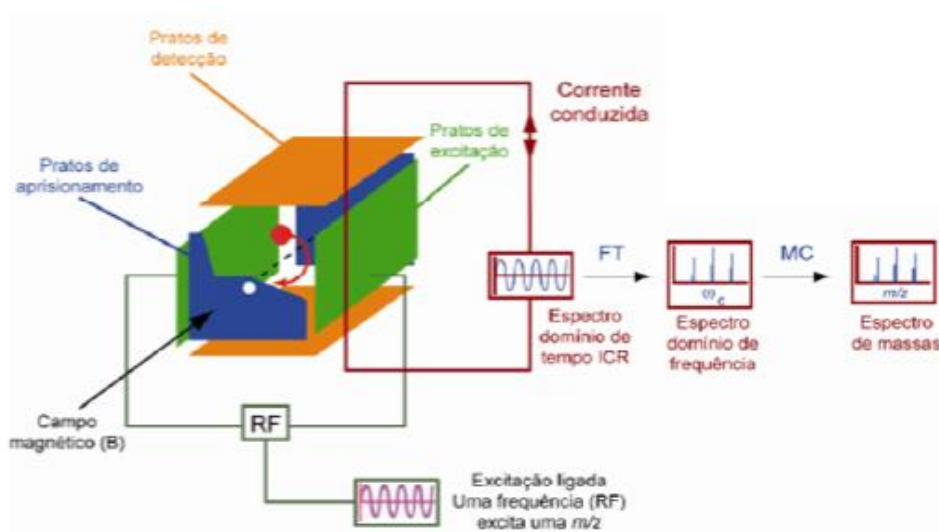


Figura 3 - Esquema do funcionamento de um FT-ICR (Dalmaschio, 2012).

1.3.2. Orbitrap MS

O Orbitrap foi conhecido pela primeira vez na Conferência da Sociedade Americana de Espectrometria de Massas (ASMS) em 1999 e, logo em seguida, foi lançado no mercado em 2005 como um analisador de massas preciso, compacto e exato. A primeira implementação comercial foi um instrumento híbrido (LTQ Orbitrap) (MAKAROV et al., 2006). Atualmente, se tornou um dos analisadores de massas mais vendidos no mundo e presente em vários laboratórios analíticos em múltiplos campos da ciência. Sendo considerado o mais novo integrante da família de alta resolução em FTMS, o mais jovem da família de analisadores de massa herdou algumas características de seus familiares mais consolidados. Por exemplo, o princípio de detecção de corrente de imagem do FT-ICR, eletrodos precisamente definidos a partir da armadilha de íons de radiofrequência, injeção pulsada e o uso de campos eletrostáticos dos analisadores Tempo-de-Voo (TOF, *time-of-flight*).

A figura 4 ilustra o analisador de massas Orbitrap que consiste em 3 eletrodos: um eletrodo axial interno no eixo x e dois eletrodos coaxiais externos. O aprisionamento dos íons no Orbitrap é realizado por um campo eletrostático. Os eletrodos axialmente simétricos criam um potencial eletrostático, responsável pela oscilação dos íons em volta da orbita. A tensão é aplicada entre os eletrodos externos e o eletrodo interno central, o campo elétrico resultante é estritamente linear ao longo do eixo, resultando em oscilações ao longo desta direção onde serão puramente harmônicas, utilizando apenas *direct current* (DC) (ZUBAREV; MAKAROV, 2013).

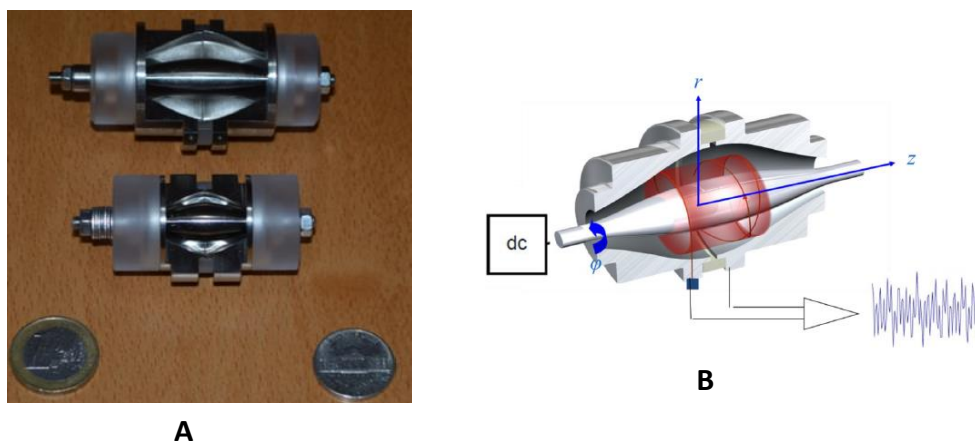


Figura 4 - (A) Cortes de um padrão (superior) e um alto campo (inferior) analisador Orbitrap MS (ZUBAREV e MAKAROV, 2013). (B) Ilustração esquemática do analisador de massas Orbitrap, demonstrando as três orbitas envolvidas, frequência de rotação $\omega\phi$, frequência de oscilação radial ωr e frequência de oscilação axial ωz (MAKAROV et al., 2009).

A geometria do Orbitrap leva à formação de um gradiente de campo elétrico em seu interior e este gradiente faz com que os íons oscilem axialmente de forma dependente de sua massa. A frequência de oscilação depende da razão m/z dos íons. As oscilações são detectadas usando detecção de corrente por imagem sensível pelos eletrodos externos. Entretanto, o sinal recebido gera um transiente que se converte em um espectro de massas por transformada de Fourier (ZUBAREV; MAKAROV, 2013; MAKAROV et al., 2009).

A figura 5 ilustra o *C-trap* um dispositivo curvo integrado ao analisador de massas Orbitrap. O princípio de operação decorre do armazenamento de pacote de íons em um intervalo de tempo onde a radiofrequência (RF) é desacelerada e o potencial (DC) aumenta acelerando os pacotes de íons para fora do *C-trap*, submergindo ao Orbitrap, onde são focalizados. Em seguida, o processo de aceleração dos pacotes de íons é coordenado para o eletrodo central do Orbitrap. Por fim, os íons injetados seguem uma orbita circular em torno do eletrodo central. Em consequência, quanto maior o tempo de aquisição e menor o analisador de massas Orbitrap, maior será a quantidade de voltas dos íons em torno do eletrodo central, resultando em uma maior resolução e exatidão de massa (ZUBAREV; MAKAROV, 2013).

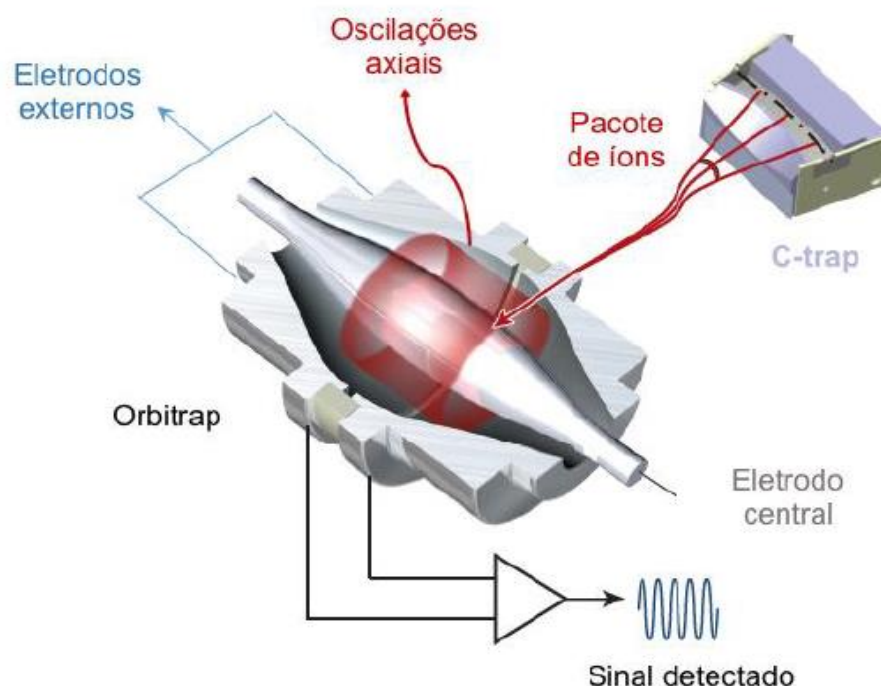


Figura 5 – (A) Representação esquemática de um C-Trap e do analisador Orbitrap, demonstrando a focalização e armazenamento dos íons (Adaptado de MAKAROV et al., 2013).

1.4. Análises de misturas orgânicas complexas

1.4.1. Petroleômica e suas abordagens

A petroleômica é o ramo da ciência que estuda o petróleo a nível molecular, esta proporciona informações valiosas sobre as características físicas e químicas deste óleo (SIM et al., 2015). Atualmente, o petróleo é incontestavelmente a mistura orgânica mais complexa da natureza, em termos de quantidades de constituintes químicos existentes em uma única amostra, essa proporção varia numa faixa de abundância de 10.000-100.000 compostos (MARSHALL e RODGERS, 2004).

Os petróleos são misturas altamente complexas que variam de moléculas pequenas e voláteis até macromoléculas. Os hidrocarbonetos (C_nH_n) consistem em ~90% da massa total. O restante se divide entre os heteroátomos de enxofre (0,06-8%), nitrogênio (0,11-1,7%), oxigênio (0,1-2%) ($N_nO_nS_n$) e metais tais como, níquel, vanádio e cobre na concentração menor que 1 ppm

(HUGHEY et al., 2002); (HUGHEY et al., 2004). As proporções médias destes átomos nos petróleos estão representadas na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Análise elementar média do petróleo (% em peso).

Carbono	80-90%
Hidrogênio	10-15%
Nitrogênio	0,11-1,7%
Enxofre	0,06-8%
Oxigênio	0,1-2%
Metais	< 1 ppm

Os compostos polares são os principais agentes causadores de problemas no produto final e também no processo de produção, refino e armazenamento do petróleo. Estes problemas incluem a corrosão, a formação de emulsões, o envenenamento e incrustação de catalisadores, a formação de depósitos durante a produção e processamento e a formação de coque, entre outros (DALMASCHIO et al., 2014). Portanto, é de fundamental importância conhecer a composição dos petróleos, para correlacionar com as suas origens e otimizar o processo de refino (MARSHALL e RODGERS, 2008; SANTOS et al., 2015).

Os compostos oxigenados mais abundantes no petróleo são os ácidos naftênicos (ácidos carboxílicos) e os fenóis. Os ácidos naftênicos são os agentes causadores das corrosões nos tanques de armazenamento, as corrosões estão relacionadas com o número de ácidos totais, do inglês, *Total Acid Number*, TAN. Os compostos fenólicos são os compostos responsáveis pela cor, odor e formação de emulsões estáveis nos petróleos, essas emulsões são formadas devido a imiscibilidade água e petróleo. Estes compostos são os principais componentes de estudo em petróleos nesta pesquisa, eles estão contidos na fração asfáltica, sendo essa a mais pesada do petróleo (WU; RODGERS; MARSHALL, 2004); (PEREIRA et al., 2014); (SPEIGHT, 2001).

A figura 6 ilustra os compostos oxigenados, tais como, ácidos carboxílicos e fenólicos, rotineiramente encontrados em petróleos.

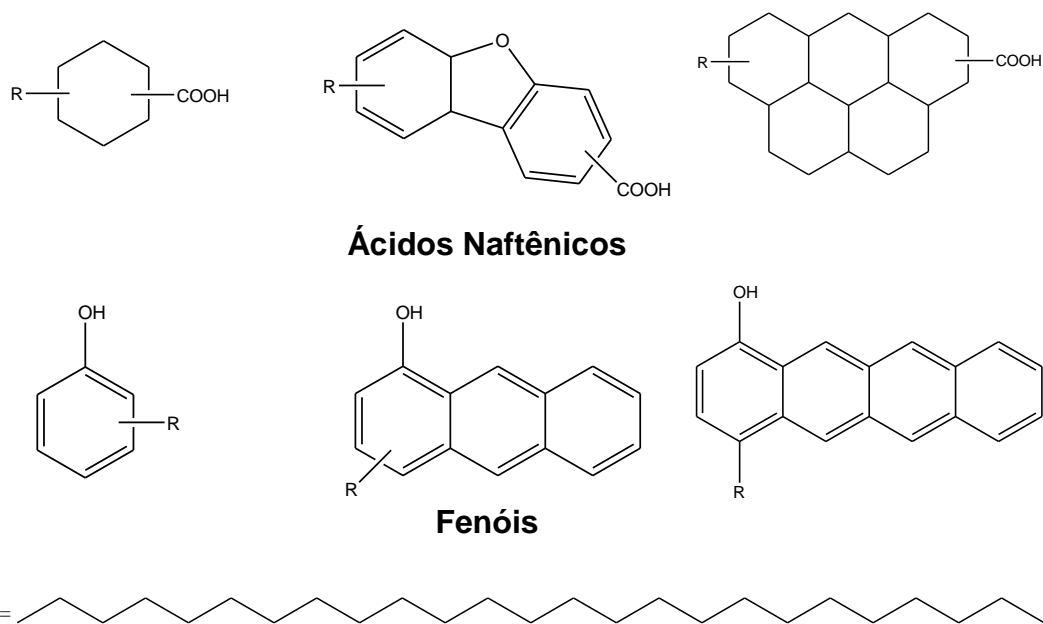


Figura 6 - Ilustrações de compostos oxigenados encontrados no petróleo (SPEIGHT, 2001). O R: são hidrocarbonetos alifáticos de inúmeros tamanhos.

A formação de emulsões, caracterizada como dispersão coloidal entre dois líquidos imiscíveis, que é muito comum na indústria petroquímica, gerando desafios significativos, para conter esse problema durante a produção e refino de petróleos. Tais emulsões podem ser muito estáveis devido à presença de compostos polares, tais como, asfaltenos e resinas, presentes na interface água/óleo. As emulsões podem ocasionar grandes problemas no desempenho do fluxo de petróleos nos oleodutos, sólidos finos também podem estar presentes nos sistemas de emulsão, formando filmes resistentes na interface da gota (SUN et al., 2018);(SCHRAMM et al., 2000). Estas emulsões podem ser altamente estáveis e exibir altas viscosidades. Em várias situações, mesmo com uma avaliação completa das propriedades básicas dos petróleos, não consegue-se explicar satisfatoriamente esse comportamento incomum (PEREIRA et al., 2014).

Entretanto, o conteúdo e as características das *n*-parafinas nos sistemas petrolíferos também podem impactar diretamente no comportamento reológico dos petróleos e formar emulsões estáveis (KILPATRICK, 2007). Sendo assim, os petróleos podem formar emulsões devido à sua composição, onde estão presentes compostos polares e *n*-parafinas, formando interações altamente

complexas de tais componentes nas interfaces das emulsões. Sendo que, a estabilidade deste sistema pode ser atribuída a dois fatores: (1) a composição de *n*-parafinas (distribuição do número de carbonos e/ou peso molecular) ou (2) os componentes polares presentes no petróleo que influenciam a interface água/óleo, facilitando um possível processo de adsorção (CHEN et al., 2007);(PEREIRA et al., 2014).

1.4.2. Ferramentas gráficas para interpretação de dados em Petroleômica

A alta complexidade do petróleo resulta em espectros inevitavelmente complexos. Um único espectro de alta resolução de petróleo pode frequentemente conter 30.000 picos (CHO et al., 2015). Além disso, a ultra-alta resolução possui desafios ainda maiores, como separar dubletos isobáricos, tais como C_3/SI_4 , $^{13}CH/N$, CH_2/N , S/O_2 e CH_4/O (KLITZKE et al., 2012). Em MS, somente os equipamentos FT-ICR e Orbitrap juntamente com ferramentas gráficas robustas conseguem desvendar esses compostos com massas muito próximas.

A ciência petroleômica necessita de aparatos de alta tecnologia para ser estudada. Portanto, diversas ferramentas gráficas foram desenvolvidas, para facilitar no processamento e interpretação dos dados, como por exemplo, histogramas com relação às classes de compostos, DBE versus intensidade relativa, gráficos de carbono total e diagramas elucidando valores de DBE versus número de carbono (PODGORSKI et al., 2013). A figura 7 ilustra um (I) histograma de classes, com seus eventuais percentuais referentes aos compostos identificados na amostra, (II) intensidade relativa referente a distribuição dos tipos de compostos de uma determinada classe em relação ao valor de DBE e o (III) número de carbono total evidenciado para uma referida classe.

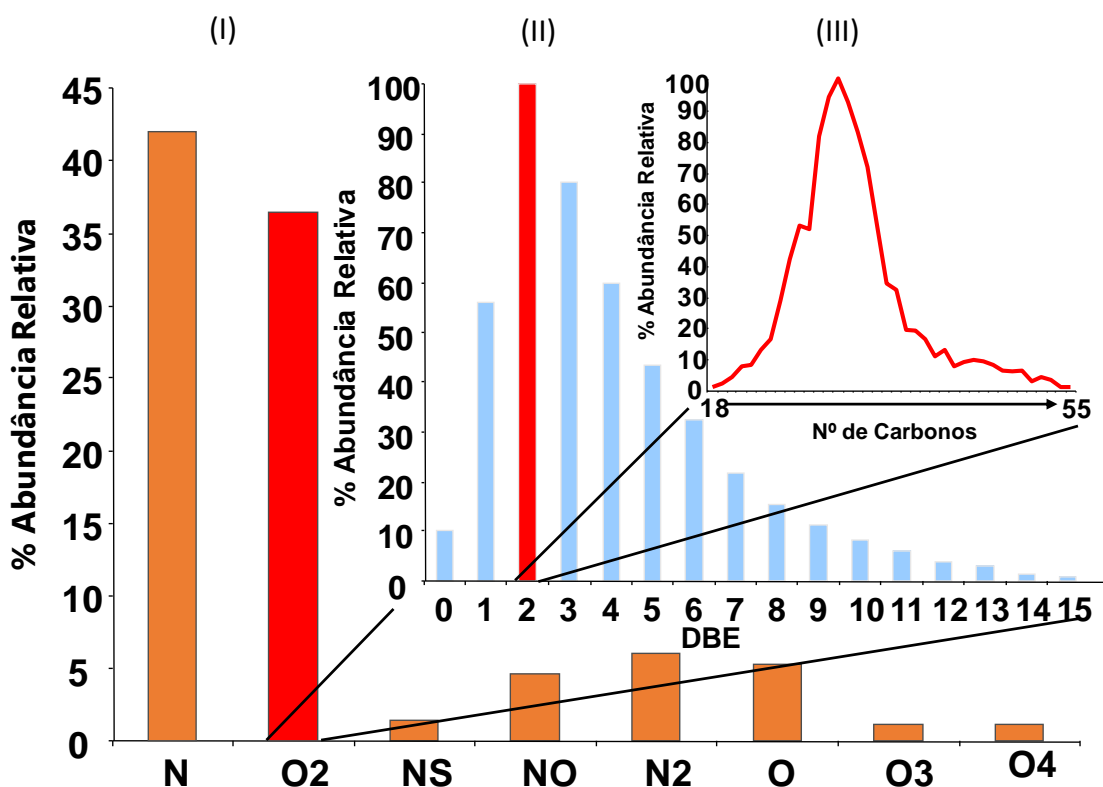


Figura 7 - (I) Histograma demonstrando as classes identificadas na amostra de petróleo, (II) distribuição dos compostos em relação ao DBE para classe O2 e (III) Número de carbono total para a classe O2.

A figura 8 ilustra um diagrama característico do número de carbono versus DBE para uma amostra de petróleo. O diagrama de DBE versus o número de carbono é gerado para espécies pertencentes a uma mesma classe. Ele possibilita uma visão geral do grau de alquilação e insaturação (DBE) de um determinado petróleo (VASCONCELOS et al., 2017). A “nuvem” de compostos   referente aos milhares de compostos identificados nos espectros de petróleos detectados por ESI FT-ICR ou Orbitrap. Portanto, através de uma simples análise visual, pode-se deduzir que cada pico corresponde a um composto que vão se interligando e formando aglomerados, com isso   possível ver altera es no DBE e também na amplitude do grau de alquila o, dos componentes de uma determinada classe (DALMASCHIO et al., 2014); (VAZ, 2011).

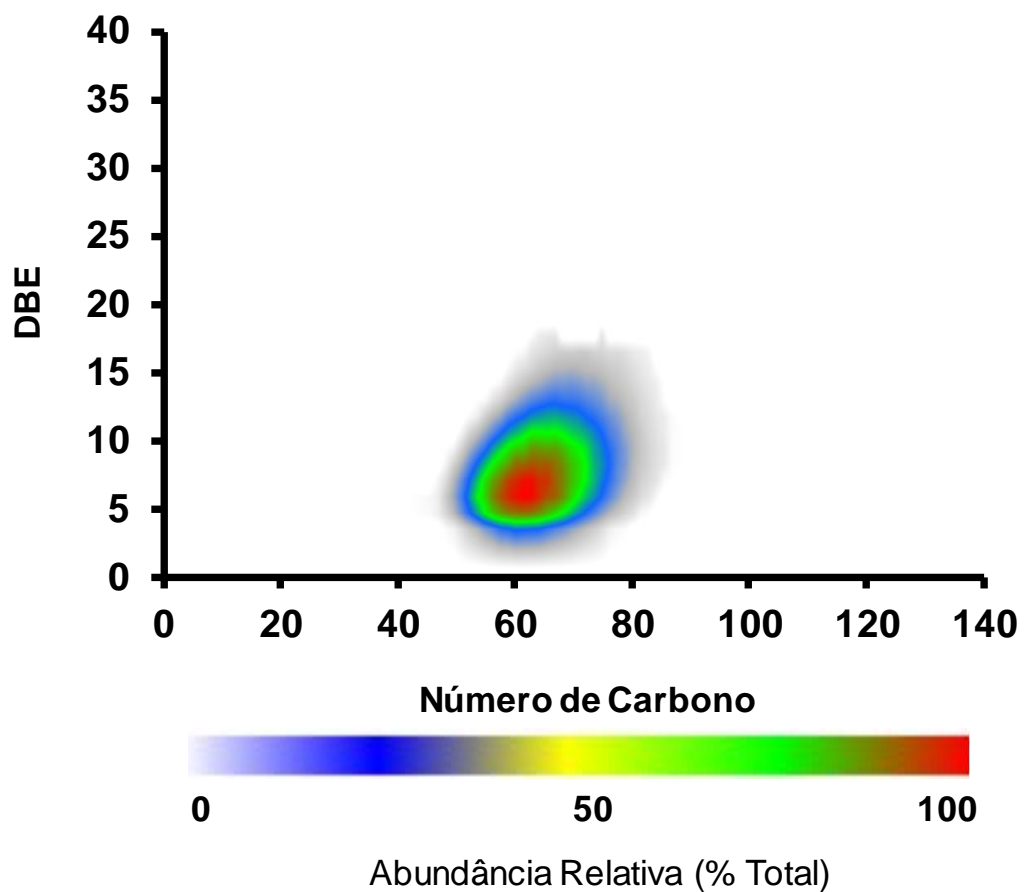


Figura 8 - Gráfico de número de carbono vs. DBE de uma amostra de petróleo adquirido pela tecnologia ESI(-) Orbitrap MS.

Objetivos

2. OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo geral, propor estratégias de petroleômica para identificar espécies moleculares responsáveis pela estabilização de emulsões em petróleos.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e otimizar uma metodologia para separar e fracionar compostos fenólicos de alto peso molecular em petróleo utilizando cartuchos de SPE;
- Identificar os compostos fenólicos responsáveis pelas formações de emulsões em petróleos;
- Caracterizar os compostos fenólicos, classe O, nas seis amostras de petróleos pela tecnologia acoplada ESI(-) Orbitrap MS.

Materiais e Métodos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. LAVAGEM DE VIDRARIA

A vidraria foi lavada com diclorometano (DCM) grau P.A (Synth, SP), água corrente em abundância, água deionizada, metanol grau HPLC (MeOH) e DCM grau HPLC antes de realizar o experimento. Por fim, colocou-se na estufa a 200 °C por 20 minutos. Após seca, a mesma foi deixada esfriar até atingir à temperatura ambiente. Por último, a vidraria foi coberta com papel alumínio para evitar contaminações.

3.2. AMOSTRAS E REAGENTES

As sete amostras de petróleo (A, B, C, D, E, F e J) foram fornecidas e selecionadas pela Petrobras - CENPES, Rio de Janeiro, RJ.

Os solventes utilizados foram grau HPLC e foram adquiridos da Tedia (Fairfield, OH) e da J.T.Baker chemicals (Swedesboro, NJ). O hidróxido de amônio (28% em H₂O) e o ácido fórmico foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Ressaltando, que todos os solventes utilizados nas extrações foram de pureza superior a 99,8%.

Os cartuchos utilizados nas extrações de fase sólida (SPE) foram todos da marca Sigma-Aldrich, o sorvente utilizado foi sílica ligada a propilamina Discovery® DSC-NH₂ (Supelco Park Bellefonte, PA) de 2g com capacidade de 12 mL cada cartucho.

3.3. FRACIONAMENTO POR CARTUCHOS (SPE) PARA PETRÓLEOS

O primeiro passo consistiu em pesar 2x250mg de cada amostra de petróleo A, B, C, D, E, F e J. Os cartuchos foram colocados no *manifold* e condicionados com 10 mL de DCM antes do fracionamento. Os petróleos foram transferidos gota a gota com aproximadamente 2 mL de DCM para os cartuchos de (SPE) com DSC-NH₂. O fluxo de eluição do gradiente foi de ~1 mL.min⁻¹ para conseguir esse fluxo estável, foi utilizado uma bomba sob pressão reduzida.

As extrações dos petróleos foram realizadas utilizando cartuchos de SPE de forma fracionada, ou seja, todas as amostras foram transferidas para o primeiro cartucho e eluídas, posteriormente, coletadas e adicionadas em um segundo cartucho para a segunda eluição, dessa maneira evita saturação da fase estacionária.

3.4. ANÁLISE PELA TECNOLOGIA ESI(-) ORBITRAP MS

As amostras foram analisadas utilizando ESI(-) Orbitrap MS modelo Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer da Thermo Scientific (Bremen, Alemanha). Resumidamente, todas as amostras foram diluídas aproximadamente $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ em tolueno/metanol 1:1 (v/v), e adicionou-se 0,2 % de hidróxido de amônio (NH_4OH) para leitura no modo negativo (aditivo utilizado para ionização das espécies polares ácidas dos petróleos). A solução obtida foi diretamente infundida a uma taxa de fluxo de $3 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Os parâmetros na fonte de ESI foram temperatura do capilar $275 \text{ }^\circ\text{C}$, *spray* de voltagem 3.5 kV e no modo de leitura do instrumento utilizou-se modo full MS, faixa de m/z dependeu da amostra em estudo e a resolução foi de 140.000 em m/z 200 Da.

O software utilizado para a leitura das amostras foi o Xcalibur Analysis package (version 2.0, Service Release 2, Thermo Scientific, Bremen, Alemanha).

Os espectros de massas obtidos foram processados no software Composer64® (Sierra Analytics, Pasadena, CA, USA) versão 1.5.3 ano (2014). Os gráficos gerados foram do perfil gaussiano, distribuição relativa de classes, de deficiência de hidrogênio (DBE), número de carbono vs. DBE e carbono total vs intensidade relativa.

3.5. FRACIONAMENTO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS EM FUNÇÃO DA MASSA MOLECULAR

O fracionamento por SPE foi realizado com o intuito de fracionar e separar os componentes do petróleo em função da massa molecular.

O princípio da SPE baseia-se na interação entre a fase sólida, ou sorvente, com o analito da amostra. O sorvente irá reter seletivamente algumas espécies da amostra de petróleo. Os analitos devem ter maior afinidade pela fase sólida do que pela matriz (etapa de retenção ou adsorção). Os compostos retidos devem ser removidos posteriormente com um ou mais solventes, que tenha maior afinidade pelos analitos (etapa de eluição ou dessorção) (JARDIM, 2010).

Nesse estudo, o fracionamento dos compostos fenólicos em função da massa molecular foi realizado a partir de adaptações na metodologia de Rowland et al. (2014), em específico os solventes foram diferentes e a proporção de ácido fórmico foi de 10%.

A figura 9 ilustra o método por SPE, que consistiu em quatro etapas: (1) etapa foi o condicionamento do sorvente com (DCM), o sorvente utilizado é uma amina primária (propilamina) de troca fortemente aniônica amplamente utilizada na extração de compostos oxigenados/ácidos. Em seguida, (2) realizou-se a percolação do petróleo onde ocorre a interação do analito no sorvente, (3) eliminação dos interferentes do petróleo (*clean up*) utilizando solventes com polaridades intermediárias para remover os compostos saturados e aromáticos, etapa (SA1-SA3) (VASCONCELOS et al., 2016). Por fim, (4) eluição/dessorção dos analitos de interesse por gradiente (n1-n6) utilizando ácido fórmico (AF) no meio reacional, esse ácido possui afinidade com os compostos ácidos do petróleo, por ser um ácido orgânico muito forte, consegue eluir os compostos ácidos que estavam retidos no grupo amina (NH₂) do sorvente.

As eluições foram por gradiente, onde este foi diminuindo a polaridade para extrair as mais altas massas de carbono nos petróleos, este fracionamento consiste em separação por tamanho, o que diminui a complexidade dos petróleos.

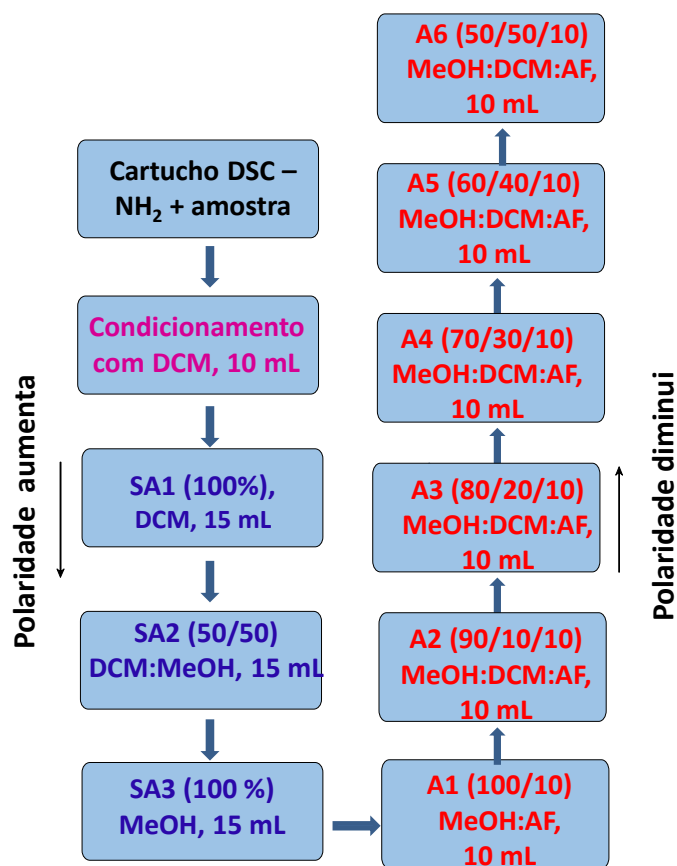


Figura 9 - Fracionamento por gradiente de solventes para extrair compostos fenólicos de alto peso molecular.

O fracionamento foi decorrente ao mecanismo ácido-base, que ocorre por causa dos (ácidos) do petróleo em interação eletrostática com o grupo propilamina da fase estacionária (base), o que, permitiu o fracionamento dos fenóis, que em petróleo também corresponde a alquilação ou número de átomos de carbono.

A figura 10 ilustra a resina usada na extração, esta se trata de uma amina alifática de troca fortemente aniônica amplamente empregada como sorvente na extração de compostos ácidos, pois esta resina contém um grupo de caráter básico (NH₂) ligado quimicamente à sílica.

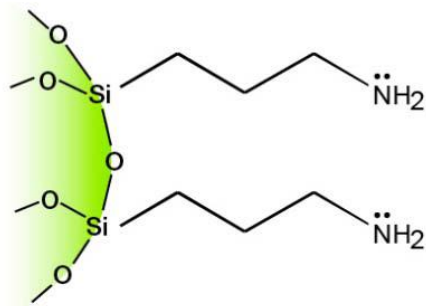


Figura 10 - Ilustração do sorvente utilizado na extração via SPE (sílica propilamina) para extração dos compostos fenólicos de alto peso molecular. Fonte: Phenomenex 2017.

Por fim, o processo de separação se dá em função da atração eletrostática entre o sorvente, grupo amina e o analito que apresenta um caráter ácido devido aos compostos oxigenados presentes no petróleo.

Resultados e Discussões

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Análises de petróleos pela tecnologia Orbitrap MS e utilização de ferramentas gráficas para interpretação de dados

Inicialmente, avaliou-se a metodologia (fracionamento e separação por SPE) para uma amostra de petróleo de acidez elevada TAN (*total acid number* - 3,0), essa acidez foi determinada em estudos antecedentes.

A figura 11 ilustra os espectros das frações do petróleo J. Note que a metodologia foi eficiente ao separar e fracionar os compostos ácidos em função do peso molecular. O fracionamento via SPE, além de diminuir a complexidade do petróleo, pois cada fração representa uma porção de compostos da amostra original, aumentou o número de compostos detectados, soma de todas as frações em comparação com o petróleo original bruto. A extração e o fracionamento simultâneo conferido pelo método minimiza o efeito de supressão iônica, possibilitando a detecção de novos compostos, exemplificados pelas frações J1-J6. Em outras palavras, o fracionamento conseguiu estender a caracterização do petróleo J, na qual o limite superior de massas deste passou de ~900 para ~1700 Da na fração J6, além, de aumentar consideravelmente o número de compostos detectados.

ESI(-) Orbitrap MS

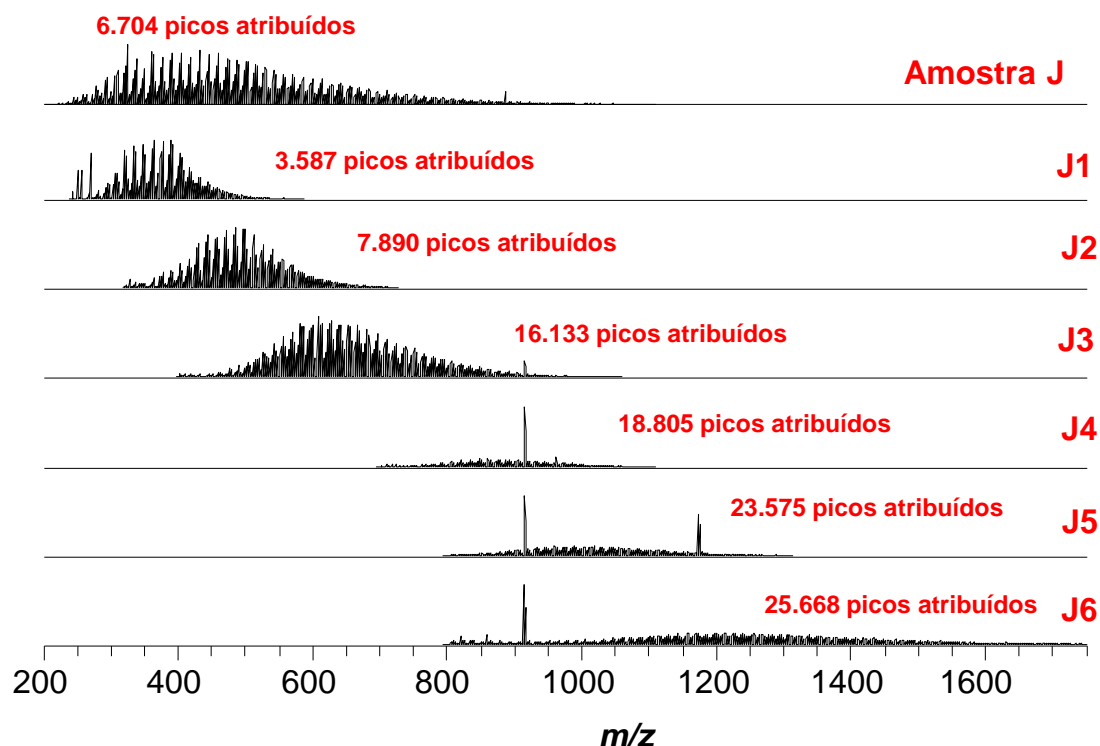


Figura 11 - Espectro de massas ESI(-) Orbitrap do petróleo J e de suas frações obtidas pelo método de SPE.

O número de compostos detectados na amostra de petróleo J foi de 6.704, após o fracionamento foram ionizados milhares de compostos que estavam mascarados. A soma total de J1-J6 apresentou-se crescimento vertiginoso, contabilizando 95.658 novos compostos, que não seriam ionizados se não fosse a nova metodologia via extração por cartuchos SPE.

Como descrito anteriormente, o método adaptado de Rowland et al., (2014) foi eficaz no fracionamento de um petróleo ácido (petróleo J). No entanto, não se sabe se o método é eficaz para petróleos de baixa acidez (TAN ~0,1). Com o objetivo de avaliar a eficiência do método para petróleos de baixa acidez, aplicou-se este método para o fracionamento dos petróleos A, B, C, D, E e F.

A caracterização físico-química destes petróleos foi descrita por Pereira et al., (2014) conforme ilustra a **Tabela 2**.

Tabela 2 - Propriedades físico-químicas dos petróleos analisados por Pereira et al., (2014).

Petróleos						
Análise	A	B	C	D	E	F
Gravidade API (deg)	31,1	26,6	26,9	27,4	28,4	29,8
TAN (mg de KOH/g)	0,03	0,23	0,17	0,57	0,29	0,17
Saturados (% m/m)	57,1	51,2	47,9	50,3	56,2	51,1
Aromáticos (% m/m)	26,2	24,2	31,5	28,2	25,7	30,9
Resinas (% m/m)	14,7	23,1	18,4	20,6	17,1	16,6
Asfaltenos (% m/m)	2,1	1,5	2,2	0,9	1,0	1,4
Relação Resina/Asfalteno	7,0	15,4	8,4	22,9	17,1	11,9
Teor de <i>n</i>-parafinas (% m/m)	10,6	10,8	8,1	5,6	15,4	7,1
TAC (°C)	45,4	46,1	39,8	12,2	41,1	26,8

TAC (°C) – Temperatura de aparência da Cera.

As amostras A, B e C levam a formação de emulsões estáveis e pertencem ao grupo de amostras 1 as amostras D, E e F não formam emulsões e representam o grupo 2. Salienta-se, que estes seis petróleos possuem caracterização física e química muito similar, conforme os dados compilados de Pereira et al., (2014) expresso na **Tabela 2**.

Portanto, ainda não está claro se existe uma possível correlação entre o teor de *n*-parafina e a relação resina/asfalteno, que justifica a formação de emulsões para os resultados de estabilidade/gelificação. As emulsões em petróleos que têm baixa razão entre resinas e asfaltenos são consideradas estáveis como descrito por Kilpatrick et al., (2012). As Emulsões A e B foram menos estáveis que a emulsão C. Em relação ao teor de asfalteno A-C, exibiu características similares. A principal diferença dos dois grupos está na relação de asfaltenos. Esses resultados reforçam a tese, que o comportamento e a estabilidade das emulsões são consideravelmente complexos e não devem ser explicadas com base apenas nas interações entre *n*-parafinas e asfaltenos.

Considerando esses resultados, o comportamento dos petróleos está relacionado a dois fatores. O primeiro é o conteúdo de *n*-parafina e a composição (distribuição de NC, PM e DBE). A composição de *n*-parafinas para estas amostras é pouco compreendida. Como por exemplo, a cromatografia

gasosa permaneceu incapaz de separar as *n*-parafinas dos petróleos acima de C₆₀. Além disso, pouco se sabe sobre os aspectos químicos macro e microcristalinos nesses tipos de sistemas. O segundo fator é a presença de componentes polares nos petróleos que podem influenciar a interface água/óleo, facilitando um possível processo de adsorção. O comportamento reológico é mais fortemente influenciado não pelos asfaltenos, mas pelos compostos polares (PEREIRA, et al., 2014).

A figura 12 ilustra a diferença entre os petróleos A, B e C que possuem elevada razão O/O₂ em comparação com os petróleos D, E e F. A razão O/O₂ é obtida do perfil de classes do estudo de Pereira et al., (2014) pelas análises de ESI FT-ICR, que propõem que os compostos fenólicos, classe O, desempenham um papel importante na estabilização da emulsão.

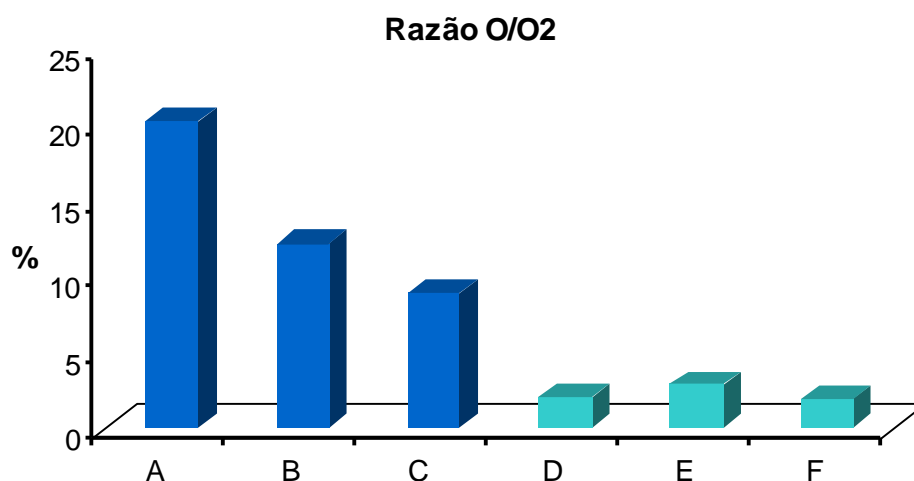


Figura 12 - Razão O/O₂ para as amostras de petróleos A-F.

Acredita-se que as cadeias alifáticas dos compostos fenólicos se alinham com as parafinas estabilizando as emulsões. No entanto, no estudo de Pereira et al., (2014) na caracterização dos petróleos por ESI FT-ICR não se detectou compostos fenólicos de alto peso molecular que justifica o alinhamento dos mesmos com as parafinas, devido aos efeitos de supressão iônica inerentes na análise de ESI.

A figura 13 ilustra a comparação entre os espectros de massas analisados pela tecnologia ESI(-) Orbitrap, para os petróleos A, B, C, D, E e F.

Nota-se que os petróleos do grupo 1, que emulsificam apresentaram pouca, mas maior razão m/z em relação aos petróleos do grupo 2. O fracionamento conseguiu estender a caracterização dos petróleos A, B e C na qual o limite superior de massas destes passaram de ~ 700 para ~ 1300 Da nas frações (n1- n4). Já os petróleos D, E e F também teve deslocamento de m/z no fracionamento, entretanto, o alcance de m/z foi menor ~ 1000 Da. Apenas, a amostra D no fracionamento A3 obteve um maior alcance de massa, deste grupo que não emulsifica.

Em todas as amostras e seus respectivos fracionamentos, pode-se observar a presença do íon de m/z 409 que corresponde ao composto de fórmula molecular $[C_{28}H_{42}O_2-H]^+$, o qual seu sinal foi o mais intenso em todos os espectros. No entanto, a metodologia aplicada para o fracionamento de petróleos de baixo TAN foi eficiente, pois conseguiu caracterizar compostos que estavam mascarados nas amostras originais.

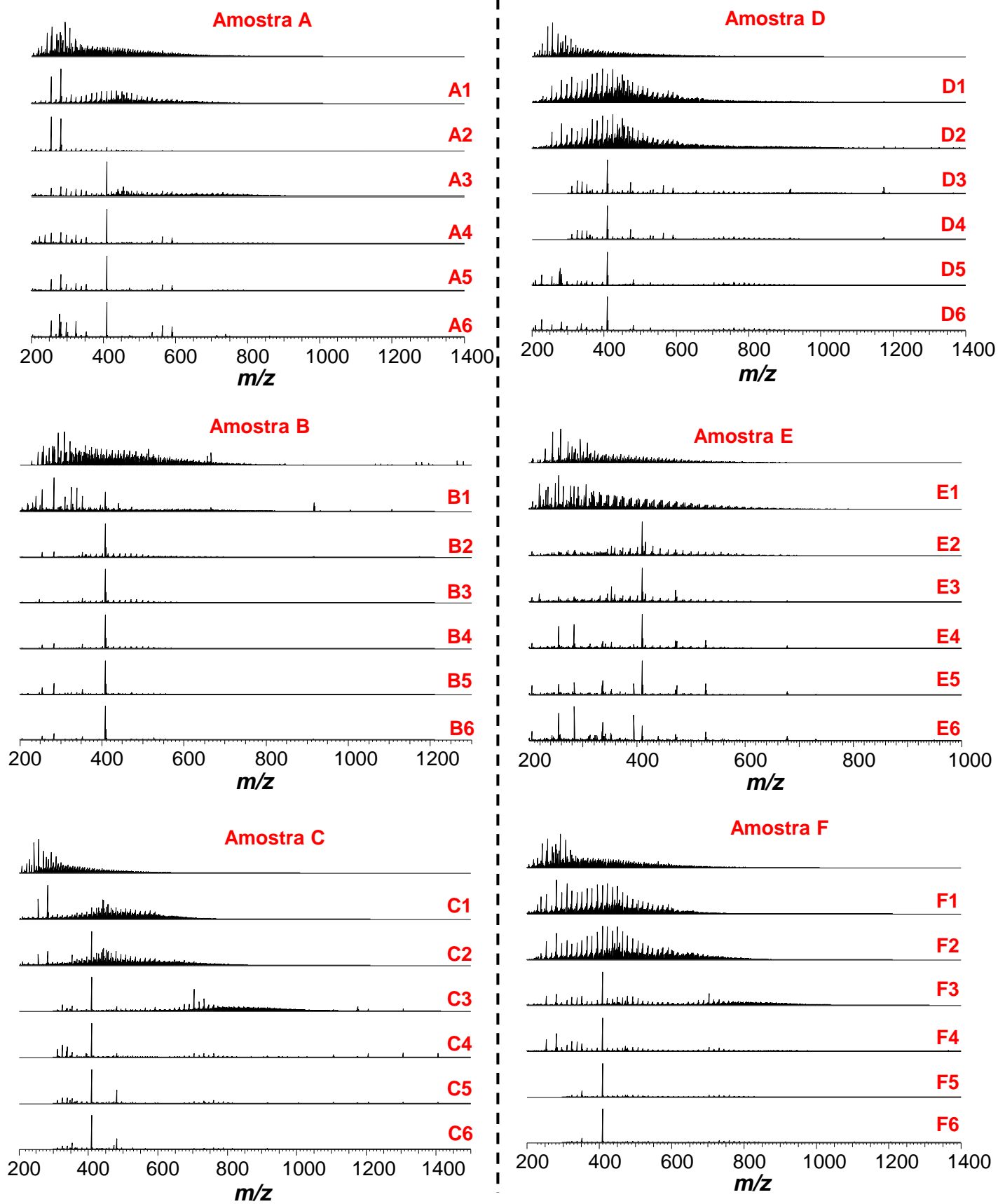


Figura 13 - Espectros de massas ESI(-) Orbitrap para os petróleos A, B, C, D, E e F e suas respectivas frações obtidas pelo método de SPE.

A figura 14 ilustra a abundância relativa para todas as classes de compostos presentes nos petróleos A, B, C, D, E e F e suas respectivas frações. Somente as classes com abundância relativa maior que 1% estão representadas nos gráficos de classes. As classes majoritárias nas amostras de petróleos A-F foram: N, NO, NO₂, NO₃, O e O₂. Note que os números de classes identificadas nos petróleos originais são menores quando comparado com suas respectivas frações (n1-n6). A classe O corresponde aos compostos fenólicos, pode-se observar que, todas as amostras contêm esses compostos. Os compostos nitrogenados e oxigenados estão concentrados nas frações de maior ponto de ebulição do petróleo, onde a separação e análise são mais complicadas que as outras porções deste óleo (SNYDER, 1970).

Portanto, o fracionamento por SPE diminui os efeitos de supressão iônica inerentes do ESI, permitindo a ionização e detecção de compostos de menor acidez e de maior massa. O fracionamento por SPE permite a diferenciação de amostras semelhantes e a detecção de espécies com maior massa, o que pode ser uma informação útil ao decidir que tipo de tratamento cada amostra deve ter na refinaria. Sendo assim, fracionar os petróleos é uma estratégia muito útil para análise de petróleos, pois permite detectar novas(os) classes/compostos que estavam mascaradas(os).

Os gráficos de classes são uma maneira didática de representar todas as classes presente nas amostras de petróleos e em suas respectivas frações.

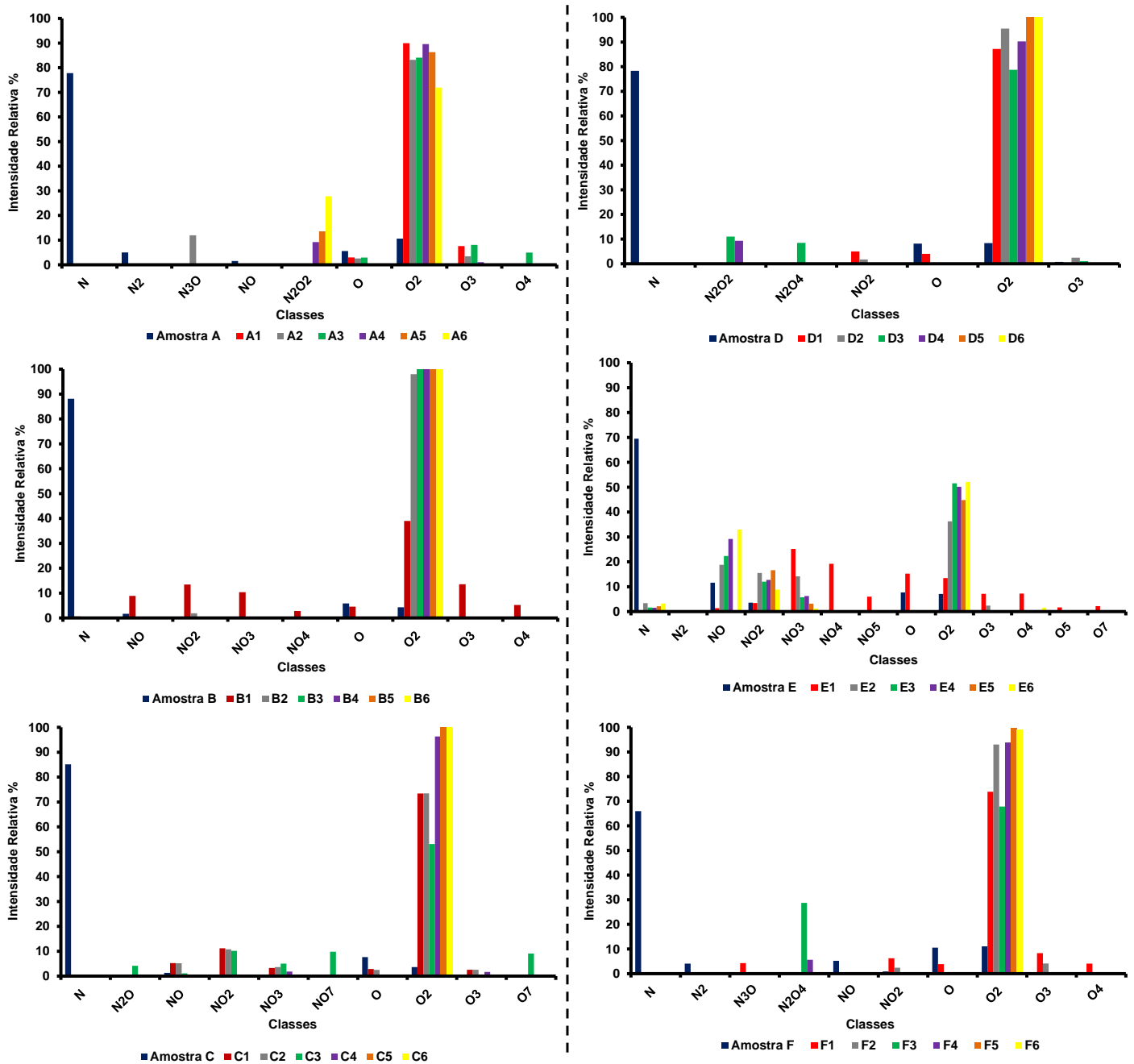


Figura 14 - Histogramas de classes detectadas no fracionamento por gradiente de solventes utilizando SPE para as amostras de A à F.

As classes nitrogenadas identificadas são compostos básicos, tais como, piridinas, quinolina, carbazóis, entre outros e os compostos ácidos são os naftênicos e fenóis (SNYDER; BUELL, 1968); (ROWLAND et al., 2014); (VASCONCELOS et al., 2017).

A figura 15 ilustra as classes de compostos predominantes nas amostras originais e nos seus respectivos fracionamentos, obtidos a partir da extração

via SPE. A extração por SPE diminui a complexidade das amostras, diminui o efeito de supressão iônica, aumenta a ionização e caracterização dos compostos mascarados nas amostras originais.

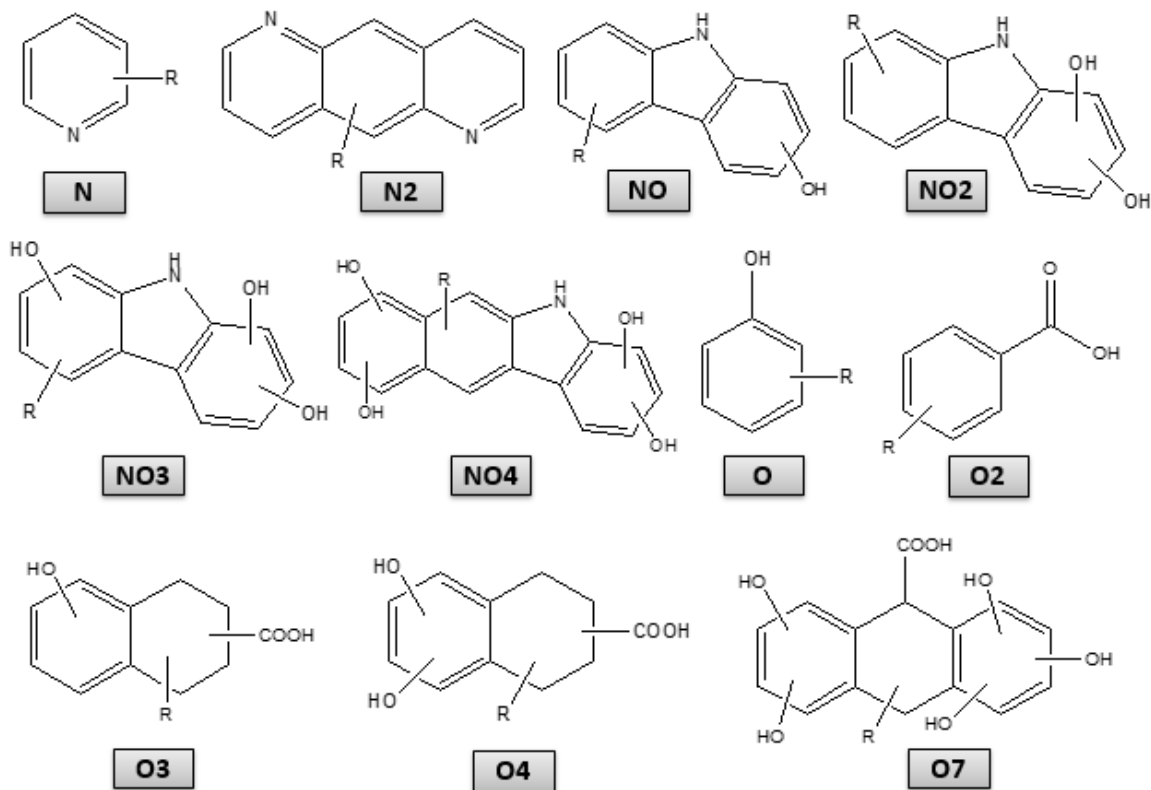


Figura 15 - Distribuição relativa das classes de compostos obtidas por ESI(-) Orbitrap MS das amostras e seus respectivos fracionamentos resultantes da extração via SPE.

Outra ferramenta gráfica, comumente utilizada para sumarizar o grande volume de dados obtidos por meio destas análises é a distribuição relativa de DBE (*Double Bond Equivalent*). O DBE é calculado pela equação 2 e quanto mais alto é o valor de DBE, maior é a deficiência em hidrogênio do composto (MARSHALL e RODGERS, 2008).

$$\text{DBE} = [\text{N}^{\text{O}} \text{ de carbonos}] - \frac{\text{H}}{2} + \frac{\text{N}}{2} + 1 \quad \text{Equação (2)}$$

Os gráficos de DBE vs. intensidade relativa foram plotados apenas para a classe O, que são os compostos de maior interesse nesse estudo.

A figura 16 ilustra a distribuição dos compostos da classe O para as amostras originais, que apresentaram uma amplitude de DBE variando de 4 a

12. As espécies predominantes nos seis petróleos foram de (DBE 4) correspondendo a fenóis monoaromáticos e compostos aromáticos condensados com um anel (DBE 5) e dois anéis naftênicos (DBE 6).

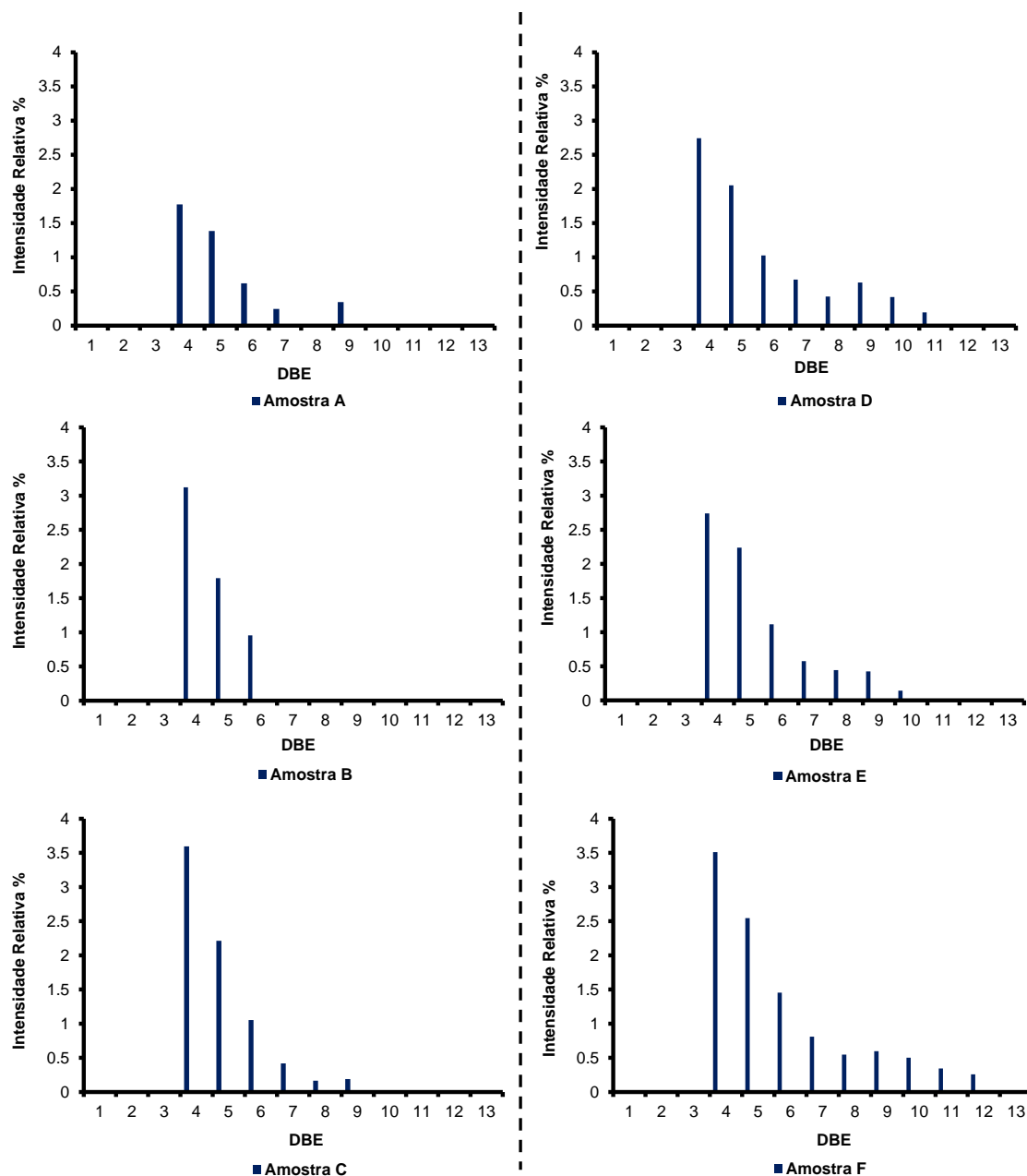


Figura 16 - Histogramas de DBE vs. intensidade relativa plotados para classe O. Do lado esquerdo amostras (A, B e C) do lado direito amostras (D, E e F).

A figura 17 ilustra a distribuição do DBE vs. intensidade relativa para a classe O, das respectivas frações das amostras originais, o DBE variou de 4 a 13. As espécies predominantes nos seis fracionamentos também foram de (DBE 4) correspondendo a fenóis monoaromáticos e compostos aromáticos

condensados com um anel (DBE 5) e dois anéis naftênicos (DBE 6). Moléculas fenólicas di- e tetra-aromáticas (DBE 7 e 13, respectivamente) foram detectadas. (BENNETT et al., 1996). A medida que são realizados os fracionamentos a tendência da amplitude do DBE é aumentar, devido a ionização de compostos de maiores massas.

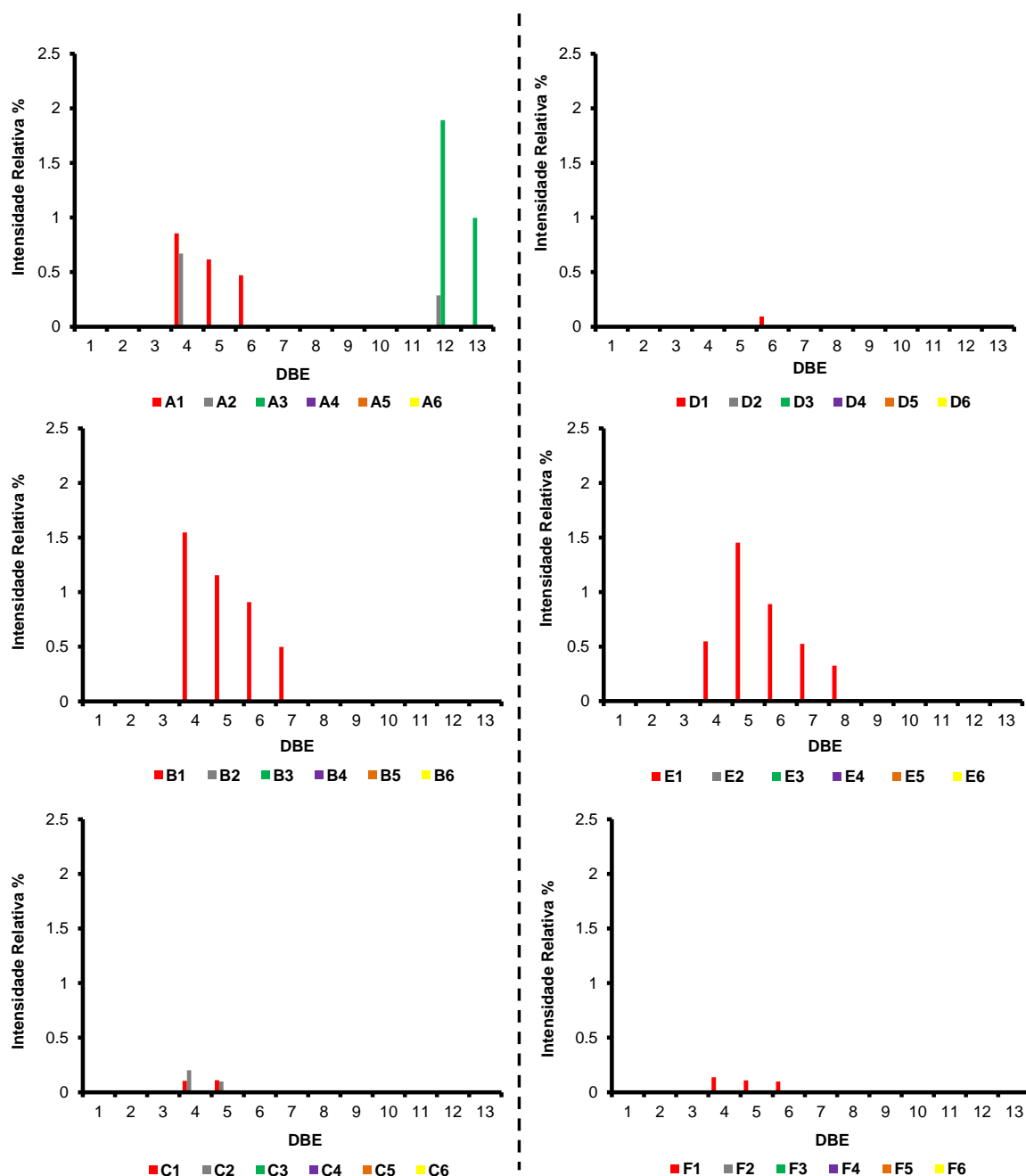


Figura 17 - Histogramas de DBE vs. intensidade relativa plotados para classe O. Do lado esquerdo os fracionamentos (A, B e C)n do lado direito (D, E e F)n. O n corresponde ao número de cada fracionamento.

A figura 18 ilustra algumas moléculas presentes nas amostras de petróleo e suas respectivas frações identificadas a partir do gráfico de DBE vs. intensidade relativa. Nota-se que se trata de compostos fenólicos de elevado DBE. Vale ressaltar que, o DBE foi calculado a partir da equação 2 o mesmo corresponde ao número de ciclos, anéis aromáticos mais ligações duplas.

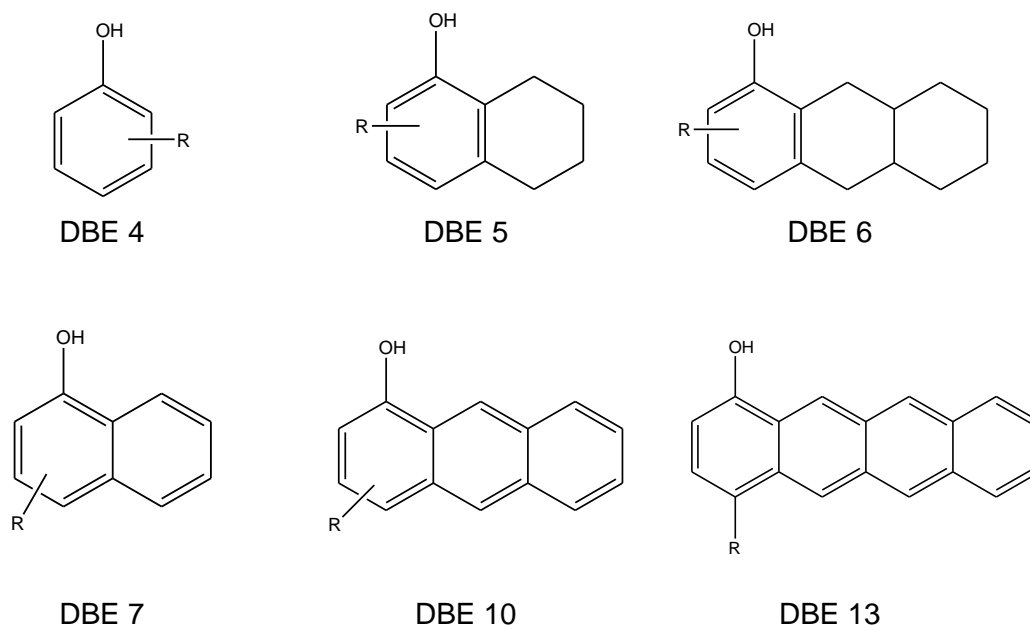


Figura 18 - Estruturas moleculares propostas para os compostos fenólicos identificados nas amostras em estudo, variando a amplitude de DBE de 4-13.

A figura 19 ilustra o DBE relativo, que corresponde às moléculas fenólicas presentes nas seis amostras de estudo. A Equação 3 demonstra a relação da soma das intensidades (I) de moléculas fenólicas de DBE 4 e 5 sob o efeito de moléculas de DBE 6 ou maior.

$$\text{DBE relativo} = \frac{\sum I_{\text{DBE } 4 + 5}}{I_{\text{DBE } \geq 6}} \quad \text{Equação (3)}$$

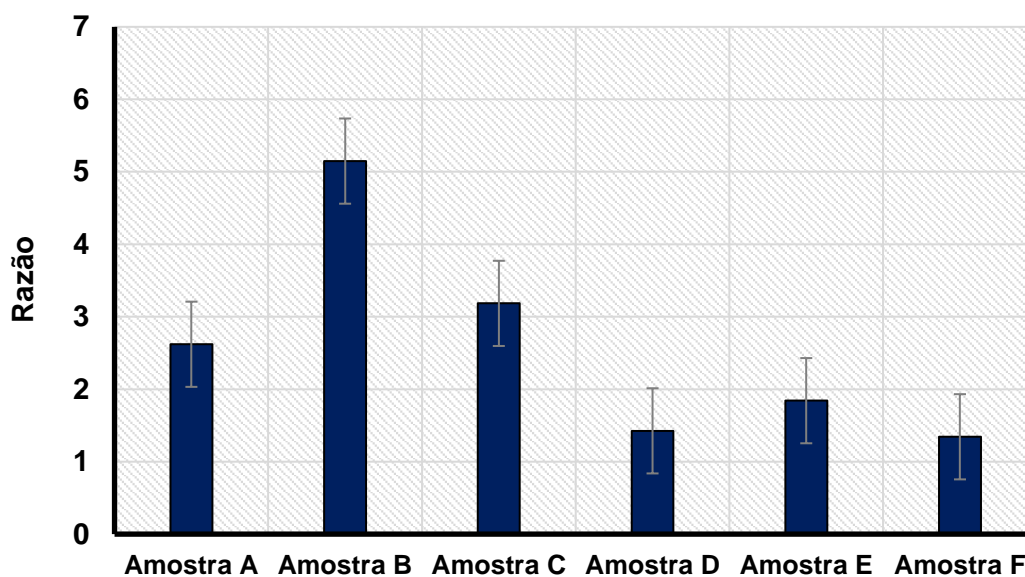


Figura 19 - Soma da razão dos DBE 4 e 5 dividido pelo DBE 6 ou maior, para cada uma das seis amostras em estudo.

Portanto, a figura 19 ilustra que as amostras de petróleos possuem maior número de moléculas com (DBE 4) correspondendo a fenóis monoaromáticos e compostos aromáticos condensados com um anel (DBE 5) com longas cadeias alifáticas do que compostos com dois anéis naftênicos (DBE 6) ou maior. O gráfico, foi plotado através dos dados das intensidades relativas das amostras (figura 15), que pode evidenciar que as amostras são principalmente compostas de moléculas de DBE 4 e 5, ou seja, são predominantes compostos fenólicos de menor DBE os quais são mais polares quando confrontado com compostos de maior DBE, que são por ventura mais apolares, devido possuírem maior quantidade de carbono e hidrogênio.

A figura 20 ilustra uma comparação dos gráficos do número de carbono (NC) vs. DBE para classe O, entre os seis petróleos do grupo 1 que emulsionam e o 2 que não emulsionam. Note, que os compostos fenólicos foram detectados em todos os petróleos. Entretanto, a amostra A foi a única que apresentou compostos fenólicos no fracionamento A3. Os dados demonstram que o petróleo A que gera emulsões estáveis, apresenta compostos fenólicos de alto peso molecular com ~80 átomos de carbono e elevado grau de insaturação (DBE). Os petróleos B e C apresentaram compostos fenólicos com ~60 e ~70 átomos de carbonos.

Logo, são estes compostos contendo longas cadeias alquílicas, que

alinham com as parafinas estabilizando a emulsão. No entanto, a estabilidade deste sistema pode ser atribuída a dois fatores: (1) ao teor de *n*-parafinas e sua composição (por exemplo, distribuição do número de carbono (NC) e/ou peso molecular (PM) e (2) aos compostos polares de alta massa molecular presentes nos petróleos que influenciam na interface água-óleo (A/O), facilitando um possível processo de absorção (SCHRAMM, 1992); (CHEN et al., 2007); (PEREIRA et al., 2014).

Estes resultados, corroboram com as propriedades reológicas dos petróleos do grupo 1 que não foram detectados no estudo anterior de Pereira et al., (2014). As amostras do grupo 1 que formam emulsões estáveis foram caracterizados compostos fenólicos que variaram o número de átomos de carbono de $\sim C_{20}$ - C_{80} .

Nas amostras do grupo 2 que não formam emulsões foram detectados compostos fenólicos apenas nos fracionamentos 1, diferente das amostras que formam emulsões. As amostras D, E e F apresentaram DBE variando de 4-19 e o número de carbono de $\sim C_{20}$ - C_{54} . Note que não foram detectados compostos fenólicos de alto peso molecular que possam justificar o alinhamento com as *n*-parafinas e a formação de emulsões estáveis.

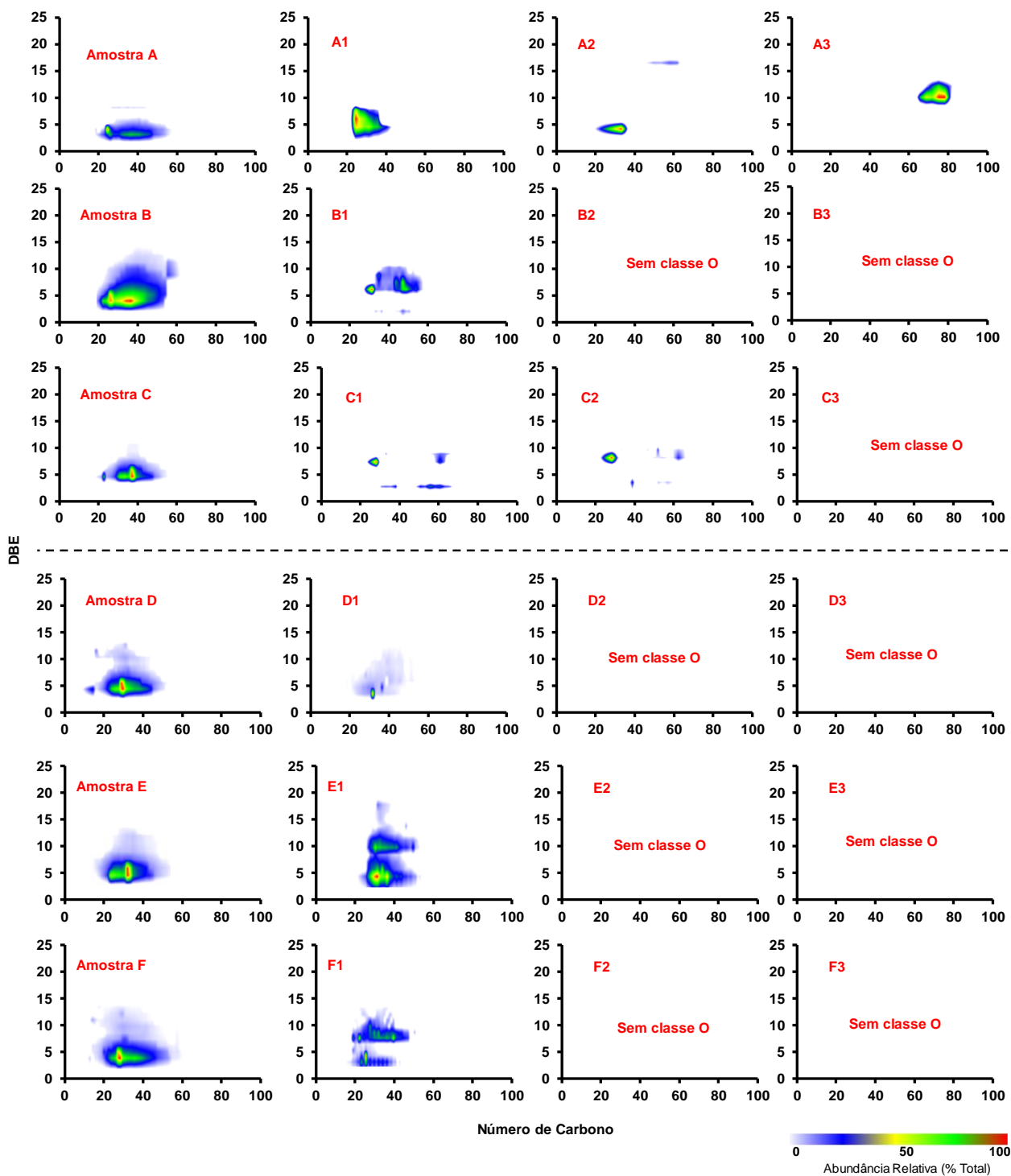


Figura 20 - Gráficos de DBE vs. NC para classe O, detectados nas amostras do grupo 1 e 2, pela tecnologia ESI(-) Orbitrap.

Por fim, a figura 21 ilustra outra ferramenta gráfica para facilitar a interpretação de dados em petroleômica, que é o gráfico de carbono total em função da intensidade relativa. Esse gráfico, evidencia uma visão geral sobre a quantidade de compostos que contém o mesmo número de carbono para uma

determinada classe, foram representadas apenas a classe O. Pode-se observar nas amostras de A-F que essas amostras possuem semelhança química quanto ao número de carbonos ~55, centrado em ~30. As frações do grupo 1 tiveram uma maior extração na extensão de compostos fenólicos pesados, amostra A ~80 carbonos, B 60 e C 70. Já as amostras do grupo 2 foram detectados e contabilizados ~54 carbonos, com média centrada em ~35.

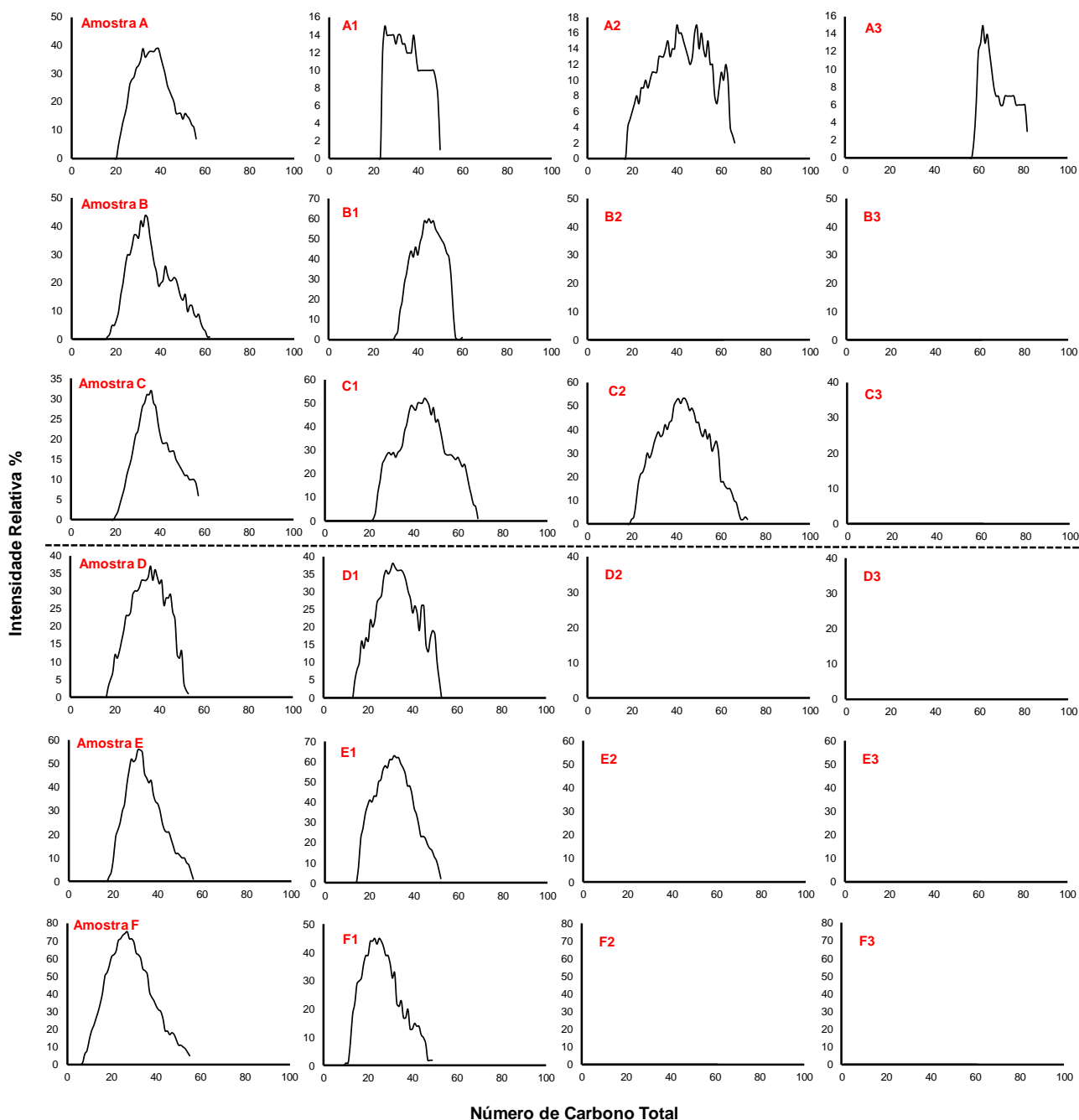


Figura 21 - Diagrama do número de carbono total versus a intensidade relativa da classe O, obtida pela tecnologia ESI(-) Orbitrap MS.

Conclusões e Perspectivas

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos revelaram maior detalhamento dos seis petróleos, e dos seus respectivos fracionamentos fornecidos pela tecnologia ESI(-) Orbitrap MS. Os petróleos contendo elevado conteúdo de moléculas classes O e O2 contribuem para a formação de emulsões altamente estáveis, essas classes são consideradas surfactantes naturais. Sendo que, os petróleos que formam emulsões estáveis exibiram maiores razões das classes O/O2, enquanto os petróleos que não formaram emulsões estáveis demonstraram menores razões O/O2. Sendo assim, as moléculas contendo elevado conteúdo de compostos oxigenados desempenham um papel importante no comportamento reológico dos petróleos.

Os petróleos A-C foram ionizados compostos fenólicos de altos pesos moleculares que formaram emulsões estáveis, resultando em uma maior abundância de ácidos carboxílicos O2 e *n*-parafinas. Em contraste, os petróleos D-F de baixas viscosidades não formaram emulsões estáveis e apresentaram compostos O de baixos pesos moleculares, baixa abundância de compostos O2 e *n*-parafinas.

O petróleo A apresentou compostos fenólicos de alto peso molecular com ~80 átomos de carbono e elevado grau de insaturações (DBE). Os petróleos B e C apresentaram compostos fenólicos com ~60 e ~70 átomos de carbonos. Portanto, são estes compostos contendo longas cadeias alquílicas, que alinham com as parafinas estabilizando as emulsões. Acredita-se, que o alinhamento das parafinas e as cadeias laterais de alquila com os fenóis corroboram para a formação de emulsões estáveis e afetam o comportamento reológico desses petróleos. Nas amostras do grupo 1 que formaram emulsões estáveis foram caracterizados compostos fenólicos que variaram o número de carbono (NC) ~C₂₀-C₈₀ e o DBE variando em uma amplitude 4 a 13.

As amostras D-F apresentaram o NC de ~C₂₀-C₅₄, o que justifica não formarem emulsões, pois apenas apresentaram compostos classe O, de baixo peso molecular. A amostra E do grupo 2 foi à única que apresentou maior amplitude de DBE dentre esses petróleos variando de 4-19.

Portanto, com esses resultados pode-se afirmar que a espectrometria de massas de ultra-alta resolução fornece dados composicionais detalhados para

análises de petróleos. Normalmente, esta análise é realizada usando o FT-ICR, que é o analisador de massas com maior poder de resolução e exatidão, mas seu alto custo e manutenção dificulta o acesso nos laboratórios. Sendo assim, o Orbitrap MS é uma técnica alternativa em espectrometria de massas de alta resolução e pode ser usado com sucesso na caracterização da composição química de matrizes complexas.

Referências Bibliográficas

6. REFERÊNCIAS

BARROS, E. V. et al. Characterization of naphthenic acids in thermally degraded petroleum by ESI(-)-FT-ICR MS and ¹H NMR after solid-phase extraction and liquid/liquid extraction. **Energy Fuels**, v. 32, p. 2878-2888, 2018.

BENASSI; M.; GARCIA-REYES, J. F.; SPENGLER, B. Ambient ion/molecule reactions in low-temperature plasmas (LTP): reactive LTP mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom**, v. 27, p. 795-804, 2013.

CHEN, W. C. et al. Petroleum Engineering Handbook. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 10, n. 1, p. 541–561, 2007.

CHO, Y. et al. Developments in FT-ICR ms instrumentation, ionization techniques, and data interpretation methods for petroleomics. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 34, n. 2, p. 248–263, 2015.

CODY, R. B.; DANE, A. J. Paper spray ionization for ambient inorganic analysis. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, v. 28, p. 893-898, 2014.

COMISAROW; M. B.; MARSHALL, A. G. Fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy. **Chem. Phys. Lett.**, v. 25, p. 282-283, 1974.

DALMASCHIO, G. P. et al. Characterization of polar compounds in a true boiling point distillation system using electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry. **Fuel**, v. 115, p. 190–202, 2014.

DEMARQUE, D. P. et al. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Nat. Prod. Rep.**, v. 33, p. 432-455, 2016.

DENISOV, E.; DAMOC, E.; LANGE, O.; MAKAROV, A. Orbitrap mass spectrometry with resolving powers above 1,000,000. **International Journal of Mass Spectrometry**, vol. 325, p. 80-85. 2012.

FENN, J. B. et al. Electrospray ionization—principles and practice. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 9, n. 1, p. 37–70, 1990.

FENN, J. B.; MANN, M.; MENG, C. K.; WONG, S. F.; WHITEHOUSE, C. M. **Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules.** *Science*, v. 246 p.64–71, 1989.

GASKELL, S. J. **Electrospray: Principles and practice** *Journal of Mass Spectrometry*, 1997.

GHASTE, M.; MISTRİK, R.; SHULAEV, V. Applications of fourier transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) and orbitrap based high resolution mass spectrometry in metabolomics and lipidomics. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 17, p. 816-838, 2016.

GLISH; G. L.; VACHET, R. W. The basics of mass spectrometry in the twenty first century. **Nat Rev Drug Discov.**, v. 2, p. 140-150, 2003.

GULBAKAN, B.; BARYLYUK, K.; ZENOBI, R. Determination of thermodynamic and kinetic properties of biomolecules by mass spectrometry. **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 31, p. 65-72, 2015.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. *Mass spectrometry: principles and applications.* London, England, **Wiley**, 2007.

HUGHEY, C. A. et al. Identification of acidic NSO compounds in crude oils of different geochemical origins by negative ion electrospray Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Organic Geochemistry**, v. 33, n. 7, p. 743–759, 2002.

HUGHEY, C. A. et al. Acidic and neutral polar NSO compounds in Smackover oils of different thermal maturity revealed by electrospray high field Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Organic Geochemistry**, v. 35, n. 7, p. 863–880, 2004.

IRELAND, T. R. Recent developments in isotope-ratio mass spectrometry for geochemistry and cosmochemistry. **Rev. Sci. Instrum.**, v. 84, p. 1-20, 2013.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, p. 13-25, 2010.

KLEIN, G. C.; KIM, S.; RODGERS, R. P.; MARSHALL, A. G.; YEN, A. Mass Spectral Analysis of Asphaltenes. II. Detailed Compositional Comparison of Asphaltenes Deposit to Its Crude Oil Counterpart for Two Geographically Different Crude Oils by ESI FT-ICR MS. **Energy & Fuels**, v. 20, p. 1973-1979, 2006.

KILPATRICK, P. K. Seventh International Conference on Petroleum Phase Behavior and Fouling. **Energy and Fuels**, v. 21, n. 3, p. 1197–1198, 2007.

KLITZKE, C. F. et al. Petroleomics by ultrahigh-resolution time-of-flight mass spectrometry. **Energy and Fuels**, v. 26, n. 9, p. 5787–5794, 2012

KRAJ, A. et al. Mass spectrometry: instrumentation, interpretation, and applications. Bruxellas, Bélgica, **John Wiley & Sons**, 2008.

LEE, J. K. et al. Microdroplet fusion mass spectrometry for fast reaction kinetics. **PNAS**, v. 112, p. 3898-3903, 2015.

MORGADO, S. E. ESPECTROMETRIA DE MASSAS POR FT-ICR E ORBITRAP: QUÍMICA FORENSE, ANÁLISE DE PETRÓLEO E SEUS DERIVADOS. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2013.

MARSHALL, A. G.; HENDRICKSON, C. L.; JACKSON, G. S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: a primer. **Mass Spectrom. Rev.**, v. 17, p. 1–35, 1998.

MAKAROV, A.; DENISOV, E.; KHOLOMEEV, A.; BALSCHUN, W.; LANGE, O.; STRUPAT, K.; HORNING, S. Performance evaluation of a hybrid linear ion trap/Orbitrap mass spectrometer. **Analytical Chemistry**, vol.78, p. 2113–2120, 2006.

MARSHALL, A.G.; RODGERS, R.P. Petroleomics: the next grand challenge for chemical analysis. **Accounts of Chemical Research**, vol. 37, n.1, p. 53-59, 2004.

MARSHALL, A. G.; RODGERS, R. P. Petroleomics: chemistry of the underworld. **The National Academy of Sciences of the USA**, v. 105, p. 18090–18095, 2008.

MONTOWSKA, M. et al. Authentication of processed meat products by peptidomic analysis using rapid ambient mass spectrometry. **Food Chem.**, v. 187, p. 297-304, 2015.

NANOTECHNOLOGY SOLUTIONS. **Electrospray Ionization (ESI)**, 2013. Disponível em: <<https://nanotechnologysolutions.wordpress.com/category/>>. Acesso em: 01 março de 2018.

PAVLOVICH, M. J.; MUSSELMAN, B.; HALL, A. B. Direct analysis in real time —mass spectrometry (DART-MS) in forensic and security applications. **Mass Spectrom. Rev.**, v. 37, p. 171-187, 2018.

PEREIRA, R. C. L. et al. Waxy crude oil emulsion gel: Chemical characterization of emulsified phase extract components. **Energy and Fuels**, v. 28, n. 12, p. 7352–7358, 2014.

PODGORSKI, D. C. et al. Heavy petroleum composition. 5. Compositional and structural continuum of petroleum revealed. **Energy and Fuels**, v. 27, n. 3, p. 1268–1276, 2013.

Phenomenex; <http://www.phenomenex.com/Products/SPDetail/Strata/NH2?returnURL=/Products/Search/SPE>. Acessado, em agosto de 2017.

ROWLAND, STEVEN M.; ROBBINS, WINSTON K.; CORILO, YURI E.; MARSHALL, ALAN G.; RODGERS, R. P. Solid-Phase Extraction Fractionation To Extend the Characterization of Naphthenic Acids in Crude Oil by Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass

Spectrometry. **Energy & Fuels**, v. 28, p. 5043–5048, 2014.

SCHRAMM, L. L. Petroleum Emulsions: Basic Principles. **Emulsions: Fundamentals and applications in the petroleum industry**, p. 1–49, 1992.

SCHRAMM, L. L. et al. **EMULSIONS AND FOAMS IN THE PETROLEUM INDUSTRY**. [s.l: s.n.].

SCIGELOVA, M. et al. Fourier transform mass spectrometry. **Mol. Cell. Proteomics**, v. 10, p. 1-19, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Spectrometric identification of organic compounds. **Danvers, Massachusetts, John Wiley & Sons**, 2005.

SIM, A.; CHO, Y.; KIM, D.; WITT, M.; BIRDWELL, J. E.; KIM B. J. and KIM, S. Molecular-level characterization of crude oil compounds combining reversed-phase high-performance liquid chromatography with off-line high-resolution mass spectrometry. **Fuel**, vol.140, p. 717-723, 2015.

SIUZDAK, G. An introduction to mass spectrometry ionization: an excerpt from the expanding role of mass spectrometry in biotechnology. **San Diego, California, MCC Press**, 2005.

SNYDER, L. R. Petroleum Nitrogen Compounds and Oxygen Compounds. **Accounts of Chemical Research**, v. 3, n. 9, p. 290–299, 1970.

SNYDER, L. R.; BUELL, B. E. Nitrogen and Oxygen Compound Types in Petroleum: A General Separation Scheme. **Analytical Chemistry**, v. 40, n. 8, p. 1295–1302, 1968.

SPEIGHT, J. G. **Handbook of Petroleum Analysis**. [s.l: s.n.].

SUN, N. et al. Research on factors affecting heavy oil-in-water emulsion rheology and pressure drop. **Journal of Dispersion Science and Technology**,

v. 39, n. 3, p. 411–422, 2018.

VASCONCELOS, G. A. et al. Extraction and fractionation of basic nitrogen compounds in vacuum residue by solid-phase extraction and characterization by ultra-high resolution mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 418, p. 67–72, 2017.

VAZ, B. G. Petroleômica por FT-ICR MS: desvendando a composição de polares do petróleo e derivados. Tese de Doutorado. Curso de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, **Unicamp**, Campinas, 191p, 2011.

WATSON, J. C.; SPARKMAN, O. D. Introduction to mass spectrometry: instrumentation, applications and strategies for data interpretation. **Chichester, England, John Wiley & Sons**, 2007.

WU, Z.; RODGERS, R. P.; MARSHALL, A. G. Compositional determination of acidic species in Illinois no. 6 coal extracts by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Energy and Fuels**, v. 18, n. 5, p. 1424–1428, 2004.

ZHUROV, O.K.; KOZHINOV, A.N.; and YURY O. TSYBIN, Y. O. Evaluation of high-field orbitrap fourier transform mass spectrometer for petroleomics. **Energy & Fuels**, vol. 27 n.6 p. 2974-2983, 2013.

ZUBAREV, R.A.; MAKAROV, A. Orbitrap Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, vol. 85, p. 5288–5296, 2013.