

DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS TETRAMÉRICOS EM AMOSTRAS DE PETRÓLEO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO

DETECTION AND QUANTIFICATION OF TETRAMERIC ACIDS IN OIL SAMPLES HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY

¹Eliane Valéria de Barros.

²Mariana Kuster Moro

³Lindamara Maria de Souza.

⁴Thieres Magaive Costa Pereira

⁵Gabriely Silveira Folli

⁶Paulo Roberto Filgueiras

⁷Valdemar Lacerda Jr.

⁸Marcia Cristina Khalil de Oliveira

⁹Luiz Silvino Chinelatto Jr.

^{10*}Wanderson Romão

¹Instituto Federal do Espírito Santo. E-mail: evbarros@gmail.com.

²Instituto Federal da Bahia. E-mail: marianakustermoro@gmail.com

³Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: lindamaramsouza@gmail.com.

⁴Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: thierespereira@live.com

⁵Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: gabifolli@hotmail.com

⁶Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: filgueiras.pr@gmail.com

⁷Universidade Federal do Espírito Santo. E-mail: valdemar.lacerda@ufes.br

⁸Centro de Pesquisa e Desenvolvimento e Inovação. E-mail: marcia.khalil@petrobras.com.br

⁹Centro de Pesquisa e Desenvolvimento e Inovação. E-mail: lsilvino@petrobras.com.br

^{10*}Instituto Federal do Espírito Santo. E-mail: wanderson.romao@ifes.edu.br

Artigo submetido em 14/03/2022, aceito em 01/04/2023 e publicado em 30/04/2023.

Resumo: Dentre os desafios da extração e caracterização de ácidos naftênicos tetraméricos (ARN) a partir da sua matriz complexa, propusemos o emprego de uma nova metodologia de análise para a identificação dessas espécies em amostras de petróleo. Tal metodologia, baseia-se numa abordagem não convencional da utilização da *electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry* (ESI(-)FT-ICR MS), através da dopagem da amostra com ácido fórmico para transformação dos sais de ARN em sua forma mono ou dicarregada. Por outro lado, a aplicação bem-sucedida do FT-ICR MS em Petroleômica depende dos métodos de processamento de dados. No presente estudo foram construídos alguns modelos de regressão multivariados, pelo método de Mínimos Quadrados Parciais (PLS), e avaliados com aplicações em amostras testes para determinação de ARN em amostras de petróleo a partir de dados de FT-ICR MS.

Palavras-chave: ácidos naftênicos, ARN, ESI(-)FT-ICR MS, quimiometria.

Abstract: Among the challenges of extracting and characterizing ARN from its complex matrix, we propose the use of a new analysis methodology to identify these species in oil samples. This methodology is based on an unconventional approach of using ESI(-)FT-ICR MS, by doping the sample with formic acid to transform the ARN salts into their mono or unloaded form. On the other hand, the successful application of FT-ICR MS in petroleomics depends on data processing methods. In the present study, some multivariate regression models were constructed, using the Partial Least Squares (PLS) method, and evaluated with applications in test samples for the determination of ARN in oil samples from FT-ICR MS data.

Keywords: naphthenic acids, ARN, ESI(-)FT-ICR MS, chemometrics.

1 INTRODUÇÃO

Durante a produção de petróleo bruto, é fundamental garantir um processo de escoamento bem-sucedido (SIMON *et al.*, 2015). Contudo, alguns componentes presentes no petróleo bruto ou na água produzida podem precipitar-se e, como resultado, causar problemas graves na produção (SIMON *et al.*, 2015; SJÖBLOM *et al.*, 2014).

Neste âmbito, um grupo específico de ácidos naftênicos (ANs), de alta massa molecular, cerca de 1230 Da, por vezes denominados de ARN (BARROS *et al.*, 2020a), termo norueguês para águia (BAUGH *et al.*, 2005). Esses ácidos são providos de quatro terminações carboxílicas e cadeias carbônicas alifáticas que podem variar de C₆₀₋₈₂ com um amplo número de anéis e duplas ligações, devido à variedade dos números unidades de ciclopentenil presentes nas estruturas dessas espécies (BARROS *et al.*, 2020a).

Os ARN são capazes de realizar ligações cruzadas com íons cálcio, mediante a alterações de pH na água co-produzida (BAUGH *et al.*, 2005; SIMON *et al.*, 2020b) e precipitar-se como um sal (naftenato de cálcio) insolúvel capaz de restringir os sistemas de produção de petróleo.

Por outro lado, a detecção e determinação da concentração de ARN, a partir de suas matrizes, é útil para estimar, em um estágio inicial, o potencial de

incrustação e a necessidade de tratamento (SJÖBLOM *et al.*, 2014).

No entanto, o teor de ARN nos óleos crus é muito pequeno (NICHOLS *et al.*, 2014; BARROS *et al.*, 2020a), o que dificulta a mensuração a partir de sua matriz, que possui ampla complexidade e variada composição (SUBRAMANIAN *et al.*, 2017). Em contrapartida, existe uma diversidade na instrumentação analítica que muito contribui para a identificação, determinação e caracterização de ANs, inclusive ARN, em petróleos e seus derivados (BARROS *et al.*, 2022a, b).

Diante disso, O presente estudo apresenta a espectrometria de massas de ressonância ciclôtrônica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) como uma ótima estratégia analítica para a caracterização e identificação de espécies ARN em amostras de petróleos por uma metodologia que permite dispensar ou requerer um preparo mais simples de amostra. Os resultados de quantificação foram obtidos com auxílio de modelos de regressão uni e multivariados, como o método dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS). Por fim, amostras de petróleos contendo ARN também foram avaliadas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Os primeiros relatos sobre os problemas relacionados à deposição de naftenatos de cálcio ocorridos em 1996, no campo de Heidrun no Mar da Noruega, foram descritos como uma ameaça contra a

produção contínua de petróleo (VINDSTAND *et al.*, 2003). A partir disso, este tipo de ocorrência tornou-se recorrente em campos produtores de petróleo em âmbito mundial (BARROS *et al.*, 2022b).

Os avanços nas análises de caracterização dos ANs contribuíram para descoberta dos ARN, responsáveis pela deposição de naftenato de cálcio (BAUGH *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2022b).

Sobre os desafios analíticos para a identificação e caracterização de ARN a partir da sua matriz complexa (BARROS *et al.*, 2022b), existem diversos estudos a respeito dos fenômenos que envolvem os mecanismos de formação, previsão e também de inibição da deposição de naftenato de cálcio em sistemas de produção de petróleo (SIMON *et al.*, 2020a; NORDGARD *et al.*, 2010; GOLDSZAL *et al.*, 2002; BRETHERTON *et al.*, 2005; DIP *et al.*, 2017).

A literatura apresenta algumas estratégias analíticas que envolvem a detecção de ARN a partir do petróleo cru (BROCARD *et al.*, 2007; MEDIAAS *et al.*, 2018; MARSHALL *et al.*, 2011; PUTMAN e MARSHALL, 2016; SUTTON *et al.*, 2014), as quais demandam de métodos de pré-preparo de amostra e extração laboriosos, que requerem um significativo consumo de solventes e que, por vezes, exigem cuidados extras devido a toxicidade dos reagentes químicos envolvidos no processo.

A este respeito, a FT-ICR MS tem se mostrado uma importante ferramenta analítica na caracterização de ANs (BARROS *et al.*, 2022b) e com boas perspectivas de identificação de ARN diretamente no petróleo e derivados, com simplicidade no preparo e consumo mínimo de amostra e reagentes.

Ademais, a aplicação bem-sucedida do FT-ICR MS em Petroleômica, que trata da caracterização molecular detalhada de amostras relacionadas ao petróleo

(PALACIO LOZANO *et al.*, 2020), depende dos métodos de processamento de dados (ISLAM *et al.*, 2012; BARROS *et al.*, 2022b). Em consoante, para relacionar dados medidos a parâmetros específicos podemos utilizar as calibrações do tipo uni e multivariada (isto é, a quimiometria), que são especialmente úteis na predição de parâmetros difíceis de serem medidos diretamente (TERRA *et al.*, 2014; VAZ *et al.*, 2013).

3 PROCESSOS METODOLÓGICOS/MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS E REAGENTES

Todos os produtos químicos empregados eram de grau analítico (pureza superior a 99,5%). Tolueno e diclorometano (DCM), sendo fornecidos pela Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, Brasil, metanol pela Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, Brasil, o ácido fórmico (CHOOH) e o hidróxido de amônio pela Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA.

Foram estudadas duas amostras de petróleo com relatos de deposição de naftenato, referenciados como óleo 1 e óleo 2, do mesmo campo de produção localizado na bacia sedimentar da costa brasileira.

O extrato de ácidos orgânicos e o padrão de ARN (quarta fração ácida, SF4, obtida conforme descrito por Barros *et al.* (2022a)), aqui utilizados, foram extraídos a partir de um depósito também brasileiro.

3.2 DETERMINAÇÃO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO

3.2.1 Estudo da adição do padrão ARN em petróleo

Dois petróleos de diferente número de acidez, petróleo A (ácido, 2,14 mg KOH g⁻¹) e petróleo B (baixa acidez, 0,398 mg KOH g⁻¹), foram enriquecidos com um

padrão de ARN (fração SF4, obtida conforme descrito por Barros *et al.* (2022a).

As adições foram realizadas de forma decrescente de concentração, até que não fosse observado, visualmente, sinais na região de m/z entre 900-1300 (sinais na região dos íons ARN^{-1}). Deste modo, as concentrações resultantes e que foram utilizadas para a construção dos modelos são: (i) petróleo A: 22,5; 17,5; 10,0; 2,5; 1,25; 0,63; 0,14; e 0,07 $\mu\text{g L}^{-1}$ e; (ii) petróleo B: 25,00; 10,00; 17,50; 12,50; 5,00; 2,50; e 1,25 $\mu\text{g L}^{-1}$. As soluções foram preparadas a partir de uma solução estoque do padrão de ARN contendo 2 mg mL^{-1} .

As dosagens da solução estoque do padrão de ARN foram realizadas de modo que a solução final mantivesse uma concentração de 0,5 mg mL^{-1} do petróleo em tolueno:metanol (1:1) a 0,1% m/v de NH_4OH em todos os ensaios para o petróleo A e de 2,0 mg. mL^{-1} do petróleo em tolueno:metanol (1:1) a 0,1% m/v de NH_4OH em todos os ensaios para o petróleo B.

As soluções resultantes dos petróleos A e B foram injetadas na fonte ESI(-) a um fluxo de 8,0 e 10 $\mu\text{L min}^{-1}$, respectivamente. As condições de operação da fonte de ESI(-) foram: voltagem no capilar de 3600 V, temperatura e fluxo do gás de secagem de 180°C e 4 L.min^{-1} , pressão de gás nebulizador de 1,0 bar, placa final *offset* 500 V, *collision voltage* 35,0 V, *skimmer* de -40,0 V. Os espectros foram adquiridos por meio de 200 varreduras de sinais transientes de domínio de tempo de 512 K com um tempo de acumulação de íons de 0,080 e 0,120 s, respectivamente, e tempo de voo (TOF) = 0,9 ms.

Antes da aquisição, o equipamento foi externamente calibrado a partir de uma solução de L-arginina (m/z 200-2000). Os espectros obtidos foram recalibrados no *software* DataAnalysis 4.0 (Bruker Daltonics) utilizando um conjunto de

compostos alquilados homólogos mais abundantes para cada amostra.

Para a construção dos modelos de regressão multivariada pelo PLS, os espectros foram configurados no *software* DataAnalysis 4.0 (Bruker Daltonics) com exatidão de massa igual ou menor do que 3 ppm e exportados para o *software* Matlab R2013a (The Mathworks, Natick, USA). Sinais com intensidades relativas inferiores a 5% foram desconsiderados e os espectros foram centralizados na média. Para a construção dos modelos de regressão para os petróleos A e B foram utilizados 8 e 9 amostras, respectivamente. Os parâmetros de desempenho mais importantes, definidos segundos (PORTELA *et al.*, 2016) foram utilizados para avaliar cada modelo, são eles: raiz quadrada do erro médio (RMSE), coeficiente de determinação (R^2), limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ) e variáveis latentes (nvl) para o modelo PLS.

3.2.2 Estudo da adição do padrão de ácidos orgânicos em petróleo

Outras curvas de calibração foram construídas para os petróleos A (ácido) e B (baixa acidez) a partir da dosagem do extrato de ácidos orgânicos (conforme descrito por Barros *et al.* (2022a) empregando as técnicas de FT-ICR MS.

Primeiramente, foram misturadas duas soluções em diclorometano (CH_2Cl_2): uma solução 5 mg mL^{-1} de extrato de ácidos orgânicos (solução estoque ARN) e outra a 10 mg. mL^{-1} de um petróleo ácido (2,14 mgKOH g^{-1}), denominado de petróleo A, de modo que a proporção de extrato e petróleo das misturas (A0 – A7) variem de 0%, 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30% e 50% (%m/m), respectivamente.

Cada mistura A0–A7 foi preparada em triplicata, totalizando 24 misturas a serem analisadas. Em seguida, deixou-se as misturas sob pressão e temperatura ambiente para a evaporação do solvente. De maneira análoga, preparou-se as

misturas (B0 – B7), em triplicata (24 misturas) para um petróleo de baixa acidez (0,398 mgKOH g⁻¹), denominado de petróleo B.

Foram empregadas sete amostras de para construção de modelos preditivos para os petróleos A e B, utilizando o algoritmo de regressão linear PLS e o *software* Matlab R2013a (The Mathworks, Natick, USA). Antes da construção de cada modelo, os conjuntos de dados foram pré-tratados com a centralização na média e normalização para FT-ICR MS. O número ótimo de variáveis latentes de cada modelo foi determinado pelo método de validação cruzada *Venetian Blind* k-fold, com k igual a 5. A qualidade dos modelos foi avaliada por meio do coeficiente de determinação, R² e da raiz do erro quadrático médio, RMSE.

Para as medidas de ESI(-)FT-ICR MS, para as adições que envolvem o teor do extrato de ácidos orgânicos nas misturas do petróleo A e B, utilizou-se a concentração de 0,5 e 2,5 mg mL⁻¹, respectivamente, em tolueno:metanol (1:1) a 0,1% m/v de NH₄OH, sob um fluxo de 8,0 e 10,0 µL min⁻¹ para injeção na fonte de ESI(-). As condições de operação do espectrômetro foram: voltagem capilar de 3.600-4.300 V, temperatura e vazão do gás de secagem de 180-200°C e 3-4 L min⁻¹, respectivamente, pressão do gás nebulizador de 1,5 bar, colisão voltagem de 30,0 e 2,0 V e *skimmer* igual a -35,0 e -25,0 V. Os espectros foram adquiridos usando 200 varreduras de sinais transitórios no domínio do tempo de 512 K, tempo de acumulação de íons no hexapolo de 0,140 s e tempo de voo (TOF) = 1,0 ms.

Todas as análises de FT-ICR MS foram realizadas em um espectrômetro de massas da marca *Bruker Daltonics*, Bremen, Alemanha, modelo 9.4 T *Solarix*, configurado para operar em uma faixa dinâmica de aquisição de íons na cela de ICR com *m/z* 200-1500 (BARROS *et al.*,

2018, 2020a; DIAS *et al.*, 2015; PINTO *et al.*; 2017; VANINI *et al.*, 2020).

Para construir os modelos de PLS, os espectros de ESI(-)FT-ICR MS foram configurados no *software* DataAnalysis 4.0 (Bruker Daltonics) com exatidão de massa igual ou inferior a 3 ppm e exportados para o *software* Matlab R2013a.

As amostras testes (petróleos 1 e 2), que tratam de petróleos com relatos de deposição de naftenato em sistemas de operação, foram analisadas nas mesmas concentrações e condições descritas nas obtenções das curvas de calibração de acordo com cada técnica mencionada acima.

3.3 IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES ARN EM AMOSTRAS DE PETRÓLEO COM RELATOS DE DEPOSIÇÃO DE NAFTENATO

Para as medidas de FT-ICR MS as amostras de petróleo, com relatos de deposição de naftenato (óleos 1 e 2), foram diluídas em tolueno: metanol (1:1) e agregadas à 0,1% m/v de NH₄OH para as medidas no ESI(-) ou à 0,1% m/v ácido fórmico no ESI(±). Sendo que a ionização de amostras pela adição de ácido fórmico no *electrospray* negativo denominamos de ESI não convencional e discriminamos pela representação ESI(-)_{AF}. As diferentes condições de aquisição dos espectros encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros na utilizados na aquisição dos espectros de FT-ICR MS das amostras investigadas

Parâmetros	ESI(+)	ESI(-)	ESI(-) _{AF}
Fluxo de injeção (mL min)	12,0	7,0	12,0
Voltagem no capilar (kV)	4,5	3,7	3,7
Pressão de gás nebulizador (bar)	2	1,5	1,5
TOF (ms)	1	1	1
Temperatura de transferência de íons (°C)	250	250	250
<i>Skimmer</i> (V)	50,0	-35,0	-50,0
<i>Collision voltage</i> (V)	-45,0	30,0	45,0
Tempo de acumulação dos íons no hexapolo (s)	0,050	0,060	0,150

Os espectros foram adquiridos por meio de 200 *scans* de sinais transientes de domínio de tempo de 4M (*mega-point*). Os espectros obtidos foram recalibrados no software *Compass DataAnalysis* 4,0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) utilizando um conjunto de compostos alquilados homólogos mais abundantes para cada amostra (BARROS *et al.*, 2018, 2020a; DIAS *et al.*, 2015; PINTO *et al.*; 2017; VANINI *et al.*, 2020). Os dados foram processados pelo *software Composer* (Serra Analytics, Pesadena, CA, EUA) e foram determinadas as composições elementares através dos valores de m/z .

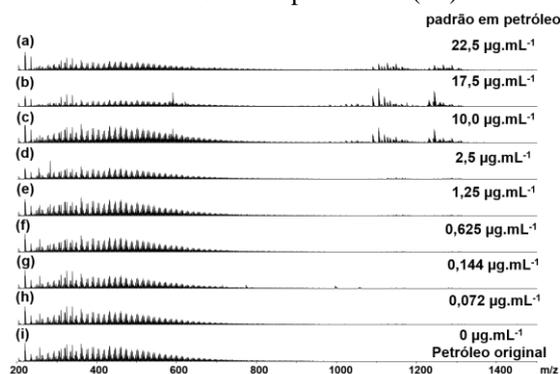
O equipamento foi calibrado externamente a partir de uma solução calibrante otimizada, que foi empregada para se obter um maior número de sinais na região de interesse ($\sim m/z$ 980 – 1300, região dos íons ARN^{-1}) e assim aumentar a precisão de massa. O equipamento também foi calibrado externamente a partir de uma solução calibrante otimizada de L-arginina e tunning mix (m/z 200-1500).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Adição do padrão ARN em petróleo

Observando a Figura 1, que apresenta os espectros de ESI(-)FT-ICR MS do petróleo A (petróleo de menor acidez, NAT 2,14 mgKOH g^{-1}) enriquecido com diferentes concentrações do padrão ARN, é possível notar que houve uma diminuição dos sinais de m/z entre 981 a 1308 em função da redução da concentração do padrão de ácidos ARN no petróleo A (22,5 \rightarrow 0,072 mg mL^{-1}).

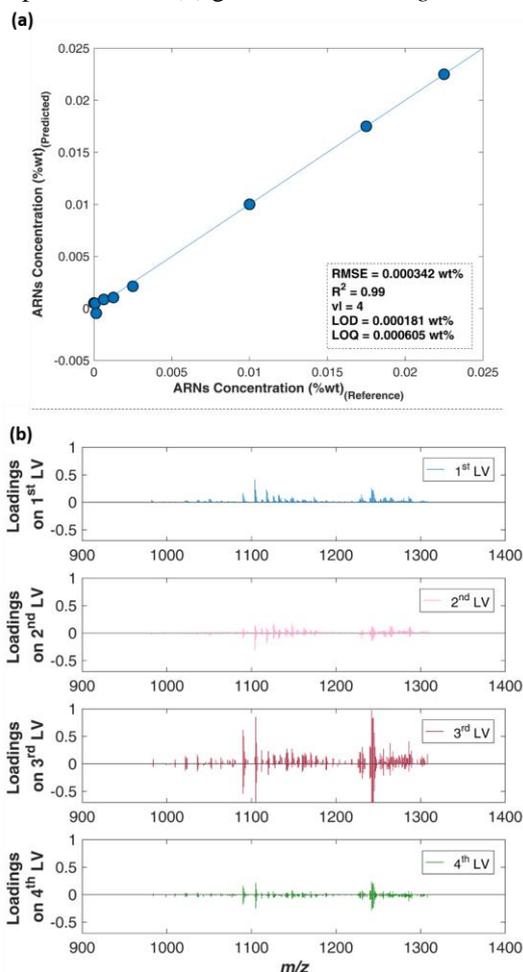
Figura 1. Espectros de ESI(-)FTIR MS do padrão de ácidos ARN dosado no petróleo A (a-i).



A partir dos dados obtidos, conforme ilustrado na Figura 1, construiu-se distintos modelos de regressões (univariado e multivariado) e os parâmetros de desempenho para esses modelos podem ser vistos na Tabela 1S. O melhor modelo (Figura 2) foi construído utilizando a região dos ARNs (m/z 901 até 1308). Esse modelo PLS foi construído utilizando 4 variáveis latentes. Desta forma, observa-se uma excelente performance analítica, com erro médio de previsão (RMSE) de 0,0003442 %m/m, $R^2 = 0,99$ e valores de LOD e LOQ de 0,000181 %m/m e 0,000605 %m/m, respectivamente. Estes parâmetros mostraram uma boa relação entre os valores previstos pelo modelo PLS.

A Figura 1S mostra os espectros de ESI(-)FT ICR MS do petróleo B (petróleo de menor acidez, NAT 0,398 mgKOH g^{-1}) enriquecido com diferentes concentrações do padrão de ácidos ARN. De maneira semelhante ao petróleo A, Figura 1, construiu-se modelos univariados e PLS (Tabela 1S), os resultados estão descritos na Figura 2S. Entretanto, diferente do petróleo A, o melhor modelo para o petróleo B foi utilizando o espectro completo de ESI(-)FT ICR MS.

Figura 2. Construção do modelo de regressão multivariado (PLS) as variáveis na região dos ARNs para as misturas de ARN com o petróleo A: (a) gráficos dos dados previstos vs. dados experimentais e (b) gráficos dos *loadings*.



Ademais, ao comparar os modelos univariados e multivariados (Tabela 1S), nota-se que novamente, o PLS apresentou uma performance superior aos modelos testados. Assim, o modelo PLS utilizando todas as variáveis, obteve os melhores parâmetros de desempenho, sendo RMSE de 0,0019 %m/m, LOD = 0,00072 %m/m; LOQ = 0,0024 %m/m, $R^2 = 0,95$ e utilizando 3 variáveis latentes. Estes parâmetros mostraram boa relação entre os valores previstos pelo modelo PLS.

Note que para o petróleo A, o modelo PLS, Figura 2, utilizando a região de importância dos ARNs gerou os melhores parâmetros de desempenho. Todavia, o petróleo B mostrou melhores

resultados com o modelo PLS utilizando todo o espectro, Figura 2S.

A diferença entre esses resultados pode ser explicada pela distinção de variáveis latentes usadas (2 e 4 para o petróleo A e B, respectivamente) em cada modelo PLS utilizando a região de ARNs, e também pelas diferenças nas propriedades físico-químicas dos petróleos (NAT igual a 2,14 mgKOH g⁻¹ e 0,398 mgKOH g⁻¹ para o petróleo A e B, respectivamente), e assim, influenciam no perfil espectral dos dados de ESI(-).

Além disso, comparando o melhor resultado para os petróleos A e B, tem-se que o petróleo A possui parâmetros de desempenho muito superiores. Ou seja, as respostas espectrais e a quantificação dos ARNs estão mais correlacionadas ao petróleo A, indicando que a metodologia empregada para o petróleo A apresentou maior robustez para prever ARNs.

Contudo, as concentrações de ARN, previstas pelo modelo PLS construído através das amostras de calibração do petróleo A (ácido), foram de 5,4 ppm ($8,7 \times 10^{-2}$ ppm) e 5,8 ppm ($1,3 \times 10^{-1}$ ppm) para os petróleos 1 e 2, respectivamente. Enquanto que o teor de ARN nos petróleos 1 e 2 foram de 12,6 ppm ($2,0 \times 10^{-1}$ ppm) e 12,4 ppm ($4,9 \times 10^{-2}$ ppm) obtidos pelo modelo construído com o petróleo B. Esses resultados não estão em conformidade com a literatura, uma vez que ARN ocorrem em baixa concentração (0,6 – 3,6 ppm) no petróleo cru (NICHOLS *et al.*, 2014; JUYAL *et al.*, 2015; BARROS *et al.*, 2020b).

Diante disso, apesar de ambos os modelos PLS apresentarem boa performance analítica indicada pelos parâmetros de R^2 , RMSE, LOQ e LOD, compreende-se que as curvas de calibração não representaram a realidade esperada, uma vez que os teores das amostras reais foram superiores ao reportado na literatura.

4.1.2 Adição do extrato de ácidos orgânicos em petróleo

Modelos de calibração multivariados PLS foram construídos para quantificar os ácidos ARN nos petróleos A (ácido) e B (baixa acidez), por meio de dados de ESI(-)FT-ICR MS.

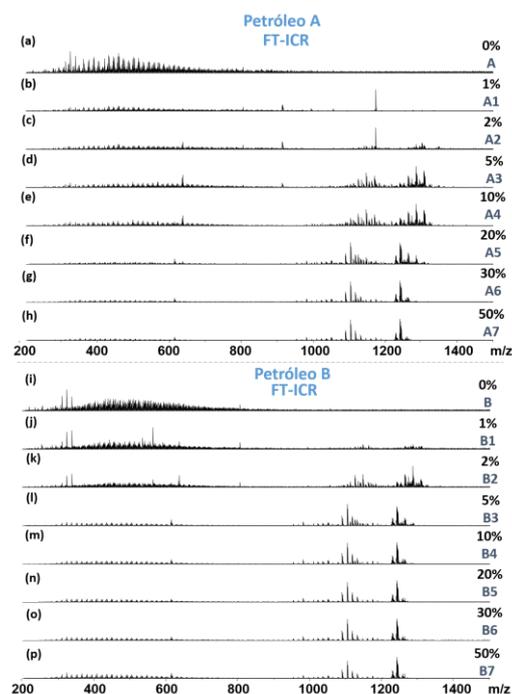
Os espectros de ESI(-)FT-ICR MS do petróleo A (petróleo ácido, NAT 2,14 mgKOH g⁻¹) e do petróleo B (petróleo de menor acidez, NAT 0,398 mgKOH g⁻¹) enriquecidos com o extrato de ácidos orgânicos estão mostrados na Figura 3. De maneira semelhante a observada nas Figuras 1 e 1S, é possível notar, que há uma alteração do perfil gaussiano em função da adição de extrato de ácidos orgânicos.

O modelo de PLS para as amostras de calibração do petróleo A, obtido a partir dos dados de ESI(-)FT-ICR MS, foi construído utilizando 3 variáveis latentes. O modelo apresentou um erro médio de previsão (RMSEC) igual a 4,74 %m/m e R² igual a 0,959, ambos referentes às amostras de calibração, conforme detalhado na Figura 4(a-c) e Tabela 2. Em geral, esses parâmetros indicam uma boa sensibilidade do modelo para detectar o teor de ARN no petróleo A.

Tabela 2: Parâmetros de desempenho da construção dos modelos de regressão.

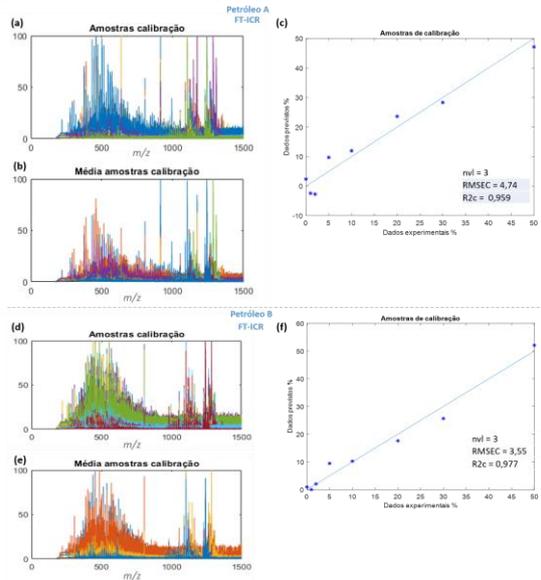
	Petróleo A			Petróleo B		
	nvl	RMSEC	R ²	nvl	RMSEC	R ²
FT-ICR MS	3	4,74	0,959	3	3,55	0,977

Figura 3. ESI(-)FT-ICR MS dos petróleos A (a-h) e B (i-p) enriquecidos com extrato de ácidos orgânicos em diferentes concentrações: 0,00 %m/m; 1,0 %m/m; 2,0 %m/m; 5,0 %m/m; 10,0 %m/m; 20,0 %m/m; 30 %m/m e 50 %m/m.



O modelo construído para as amostras de calibração do petróleo B, a partir dos dados de ESI(-)FT-ICR MS, apresentou número ótimo de variáveis latentes igual a 3, RMSEC igual a 3,55 %m/m e R² igual a 0,977, conforme mostra a Figura 6(d-f) e a Tabela 2. Esses resultados indicam uma ótima eficiência do modelo a partir dos dados de ESI(-)FT-ICR MS para quantificar ARN.

Figura 4. Construção de Modelos de regressão multivariado para a técnica de ESI(-)FTICR MS: (a)(d) gráficos dos espectros das amostras de calibração; (b)(e) gráficos dos espectros médios das amostras de calibração; (c)(f) gráfico dos dados previstos vs. dados experimentais das amostras de calibração dos modelos PLS construído a partir dos petróleos A e B, respectivamente.



Diante disso, apesar dos modelos PLS apresentarem boa performance analítica, indicada pelos parâmetros de R^2 e RMSEC, compreende-se que as curvas de calibração não representaram a realidade. Uma vez que os teores das amostras reais (Tabela 3) foram diferentes do que era esperado. Isso faz sentido ao comparar os espectros das amostras reais com os espectros das amostras de calibração, obtidos pelas diferentes técnicas aqui empregadas, Figura 5, os quais apresentam perfis muito diferentes das amostras de calibração. Em vista disso, buscamos a compreensão dos fatos.

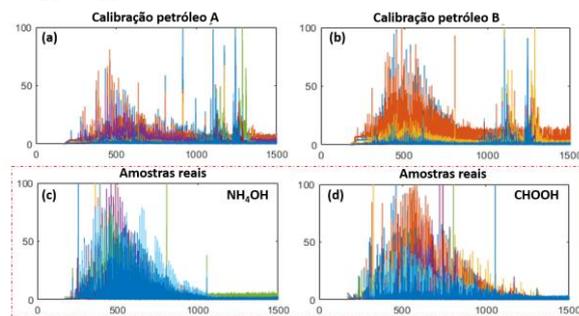
Tabela 3: Teores de ARN valores previstos nas amostras reais.

	ARN (%) previstos no PLS (Petróleo A)		ARN (%) previstos no PLS (Petróleo B)	
	Óleo 1	Óleo 2	Óleo 1	Óleo 2
FT-ICR MS	17,31	16,43	10,71	9,09

Claramente ao observarmos os espectros de ESI(-)FTICR MS das amostras reais (Figura 5), não observamos

visivelmente sinais de m/z entre 950 e 1300, característicos dos ARN. Por outro lado, quando ionizamos as amostras reais com ácido fórmico (CHOOH) para as medidas, ainda no ESI(-), de maneira inusitada, percebemos uma alteração no espectro com sinais na região dos ARN (Figura 5d). Este fato foi um tanto quanto surpreendente, mas com potencial de explicação, já que houve um desempenho ruim para a quantificação de ARN em amostras de petróleo usando ESI(-) com adição de NH_4OH .

Figura 5. Espectros médios das amostras de calibração para o petróleo A (a) e B (b); espectros médios das amostras reais (c e d) obtidos pelas técnicas de FT-ICR MS. Destaque para os espectros de massa obtidos no ESI(-) com adição de NH_4OH e CHOOH.



4.2 IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES ARN, POR FT-ICR MS, EM AMOSTRAS DE PETRÓLEO COM RELATOS DE DEPOSIÇÃO DE NAFTENATOS

Para iniciar as discussões a respeito do comportamento molecular das amostras de petróleo com relatos de precipitação de naftenato de cálcio (petróleos 1 e 2), analisamos os espectros de FT-ICR MS. Os dados de ESI(+) para o petróleo 2 revelaram a presença de espécies polares e básicas do tipo $\text{O}_8[\text{H}]$.

De fato a ionização por *electrospray* no modo negativo, ESI(-), é mais interessante porque é capaz fornecer a composição de espécies polares mais ácidas em suas formas desprotonadas $[\text{M}-\text{H}]^-$, enquanto que no modo positivo apenas a de componentes polares e básicos (PALACIO LOZANO *et al.*, 2020).

Contudo, os resultados de FT-ICR MS com a ionização não convencional das amostras pela adição de ácido fórmico no *electrospray* negativo, ESI(-)_{AF}, indicaram as classes O₄[H], O₂[H] e N[H] como majoritárias para as duas amostras de petróleo (1 e 2), com importantes diferenças na variação e abundância das classes de composto encontrados, em relação a ESI(-) convencional. Adicionalmente, se destaca a classe O₈[H], observada apenas com a ESI(-) não convencional, devido a conversão dos sais conjugados (naftenatos) em ácidos ARN pela adição de ácido fórmico.

Diante disso, foi possível compreender o porquê dos modelos de calibração para a quantificação de ARN em petróleo, desenvolvidos e discutidos anteriormente (item 4.1), não se aplicam aos petróleos investigados (petróleos 1 e 2), amostras testes. Os resultados de FT-ICR MS com a ESI(-)_{AF} indicaram que as espécies ARN, presentes nas amostras de petróleo com relatos de precipitação de naftenato de cálcio (petróleos 1 e 2), podem estar na forma de seu sal conjugado (naftenatos), diferente do padrão adicionado de ARN que está em sua forma ácida. Desta maneira, não obtivemos resultados promissões na quantificação de amostras de petróleo contendo ARN, mas que nos direcionou para o desenvolvimento de uma metodologia identificação e caracterização de espécies ARN em amostras de petróleo.

5 CONCLUSÕES

Alguns modelos de regressão para a quantificação de ARN foram desenvolvidos e empregados em amostras por FT-ICR MS. Em geral, os modelos de calibração para os petróleos de diferentes valores de acidez, apresentaram boa performance analítica, indicada pelos parâmetros de R², RMSE, LOQ e LOD. No entanto, as curvas de calibração não se aplicavam aos petróleos investigados

(petróleos 1 e 2), amostras testes ou amostras reais.

Contudo, o emprego articulado e minucioso da FT-ICR MS permitiu compreender que as espécies ARN, presentes nos petróleos com relatos de precipitação de naftenato de cálcio (amostras testes, denominados de petróleos 1 e 2), poderiam estar na forma de seu sal conjugado (naftenatos), diferente do padrão adicionado de ARN que está em sua forma ácida.

Apesar dos resultados de quantificação não serem promissores, o estudo nos direcionou para o desenvolvimento de uma metodologia de identificação e caracterização de ARN em amostras de petróleo por FT-ICRMS com ionização não convencional de amostras pela adição de ácido fórmico no *electrospray* negativo, ESI(-)_{AF}.

A metodologia aqui proposta mostra-se promissora. Uma vez requerer um preparo mais simples de amostra, apresentando-se também vantajosa, no que diz respeito a redução de consumo de reagentes e tempo de análise.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CENPES/PETROBRAS (processo n° 2018/00110-4) pelo financiamento da pesquisa. Os autores também agradecem ao LabPetro (UFES, ES, Brasil) pela realização das medições FT-ICR MS.

REFERÊNCIAS

BARROS, Eliane 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, n. 3, p. 2878-2888, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b03099>>. Acesso em: 14 mar. 2022.

- BARROS, Eliane V. *et al.*, Isolation of tetrameric acids from naphthenates deposits and characterization by high-resolution analytical techniques. **Fuel**, v. 308, p. 122065, 2022a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122065>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- BARROS, Eliane Valéria *et al.* Characterization of naphthenic acids in Crude oil samples – a literature review. **Fuel**, v. 319, p. 123775, 2022b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123775>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- DIAS, Heloísa P. *et al.* Catalytic decarboxylation of naphthenic acids in crude oils. **Fuel**, v. 158, p. 113-121, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.05.016>>. Acesso em: 14 mar. 2022.
- MEDIAAS, Heidi *et al.* The Discovery of High Molecular Weight Naphthenic Acids (ARN Acid) Responsible for Calcium Naphthenate Deposits. In: **SPE International Symposium on Oilfield Scale**. OnePetro, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.2118/93011-MS>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- BRETHERTON, Neil *et al.* Napthenate Control: Is Acetic Acid Injection the Answer?. In: **SPE International Symposium on Oilfield Corrosion**. OnePetro, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.2118/95115-MS>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- DIP, Rocio MM; COSTA, Marcelle FP; LUCAS, Elizabete F. Interfacial Films of Calcium Naphthenate: Influence of Polycardanol Structures. **Energy & Fuels**, v. 31, n. 9, p. 9275-9282, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b01675>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- GOLDSZAL, Alexandre; HURTEVENT, Christian; ROUSSEAU, Guy. Scale and naphthenate inhibition in deep-offshore fields. In: **International Symposium on Oilfield Scale**. OnePetro, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.2118/74661-MS>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- ISLAM, Annana *et al.* Data interpretation methods for petroleomics. **Mass Spectrometry Letters**, v. 3, n. 3, p. 63-67, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.5478/MSL.2012.3.3.63>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- ABDUL JAMEEL, Abdul Gani *et al.* Calculation of average molecular parameters, functional groups, and a surrogate molecule for heavy fuel oils using ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Energy & Fuels**, v. 30, n. 5, p. 3894-3905, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b00303>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- PALACIO LOZANO, Diana Catalina *et al.* Petroleomics: tools, challenges, and developments. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 13, p. 405-430, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-091619-091824>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- MARSHALL, Alan G. *et al.* **Method for identifying naphthenates in a hydrocarbon containing liquid**. U.S. Patent n. 8,084,264, 27 dez. 2011. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US8084264B2/en>>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- MEDIAAS, Heidi *et al.* **Método para isolamento e quantificação de ácidos de ARN em uma amostra de petróleo cru**. Patente n. 101.1451, 07 ago. 2018. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/BRPI10>>

11451B1/pt?oq=BRPI1011451>. Acesso em: 08 mar. 2022.

NICHOLS, D. A. et al. Calcium naphthenates in complex production systems-evaluation and chemical inhibition challenges. In: **SPE International Oilfield Scale Conference and Exhibition**. OnePetro, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.2118/SPE-169756-MS>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

NORDGÅRD, Erland L.; HANNESETH, Ann-Mari Dahl; SJÖBLOM, Johan. Inhibition of calcium naphthenate. Experimental methods to study the effect of commercially available naphthenate inhibitors. **Journal of dispersion science and technology**, v. 31, n. 5, p. 668-675, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01932690903212891>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

PAVIA, Donald L. et al. **Química orgânica experimental: técnicas de escala pequena**. Bookman, p. 780, 2009.

PINTO, Fernanda E. et al. Evaluation of adsorbent materials for the removal of nitrogen compounds in vacuum gas oil by positive and negative electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Energy & Fuels**, v. 31, n. 4, p. 3454-3464, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b02566>>. Acesso em: 14 mar. 2022.

PORTELA, Natália A. et al. Quantification of biodiesel in petroleum diesel by 1H NMR: evaluation of univariate and multivariate approaches. **Fuel**, v. 166, p. 12-18, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.10.091>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

PUTMAN, Jonathan C.; MARSHALL, Alan G. Screening petroleum crude oils for ARN tetraprotic acids with molecularly imprinted polymers. **Energy & Fuels**, v.

30, n. 7, p. 5651-5655, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b01090>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

SIMON, Sébastien et al. Interfacial shear rheology of gels formed at the Oil/Water interface by tetrameric acid and calcium ion: influence of tetrameric acid structure and oil composition. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 54, n. 35, p. 8713-8722, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b02165>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

SIMON, Sébastien et al. Influence of Asphaltenes on Gelation of Tetrameric Acid with Calcium Ion at the Oil/Water Interface under Flow-Model Condition. **Energy & Fuels**, v. 34, n. 5, p. 5846-5855, 2020a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c00829>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

SIMON, Sébastien; RUWOLDT, Jost; SJÖBLOM, Johan. A critical update of experimental techniques of bulk and interfacial components for fluid characterization with relevance to well fluid processing and transport. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 277, p. 102120, 2020b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102120>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

SJÖBLOM, Johan; SIMON, Sébastien; XU, Zhenghe. The chemistry of tetrameric acids in petroleum. **Advances in colloid and interface science**, v. 205, p. 319-338, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.12.007>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

SUBRAMANIAN, Sreedhar; SIMON, Sébastien; SJÖBLOM, Johan. Interfacial dilational rheology properties of films formed at the oil/water interface by reaction between tetrameric acid and calcium ion. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 38, n. 8, p.

1110-1116, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01932691.2016.1224718>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

SUTTON, Paul A.; ROWLAND, Steven J. Determination of the Content of C80 Tetraacids in Petroleum. **Energy & fuels**, v. 28, n. 9, p. 5657-5669, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ef5012337>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

TERRA, Luciana A. et al. Petroleomics by electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry coupled to partial least squares with variable selection methods: prediction of the total acid number of crude oils. **Analyst**, v. 139, n. 19, p. 4908-4916, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/C4AN00538D>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

VANINI, Gabriela et al. Characterization of nonvolatile polar compounds from Brazilian oils by electrospray ionization with FT-ICR MS and Orbitrap-MS. **Fuel**, v. 282, p. 118790, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118790>>. Acesso em: 14 mar. 2022.

VAZ, Boniek G. et al. Predictive petroleomics: measurement of the total acid number by electrospray Fourier transform mass spectrometry and chemometric analysis. **Energy & fuels**, v. 27, n. 4, p. 1873-1880, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ef301515y>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

VINDSTAD, Jens Emil et al. Fighting naphthenate deposition at the Heidrun field. In: **International Symposium on Oilfield Scale**. OnePetro, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.2118/80375-MS>>. Acesso em: 08 mar. 2022.

Material suplementar

Figura 1S. Espectros de ESI(-)FTIR MS do padrão de ácidos ARN dosado no petróleo B (baixa acidez) (a-h).

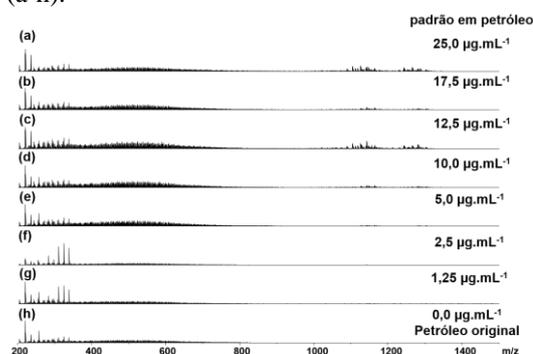


Figura 2S. Construção do modelo de regressão multivariado (PLS) usando todas as variáveis para as misturas de ARN com o petróleo B: (a) gráficos dos dados previstos vs. dados experimentais e (b) gráficos dos loadings.

