



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

AVALIAÇÃO TEMPORAL DE BIOMARCADORES DE PETRÓLEO
EMPREGADOS NO ESTUDO DE DERRAMES SIMULADOS EM AMBIENTES
TERRESTRES

RAYANE MARIA DO NASCIMENTO

RECIFE - 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

AVALIAÇÃO TEMPORAL DE BIOMARCADORES DE PETRÓLEO
EMPREGADOS NO ESTUDO DE DERRAMES SIMULADOS EM AMBIENTES
TERRESTRES

RAYANE MARIA DO NASCIMENTO

RECIFE – 2019

RAYANE MARIA DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO TEMPORAL DE BIOMARCADORES DE PETRÓLEO
EMPREGADOS NO ESTUDO DE DERRAMES SIMULADOS EM AMBIENTES
TERRESTRES

Monografia apresentada como pré-requisito
de conclusão do Curso de Licenciatura Plena
em Química, da Universidade Federal Rural
de Pernambuco, tendo como orientador o
Professor Dr. Jandyson Machado Santos.

RECIFE – 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

N244b Nascimento, Rayane Maria do.
Biomarcadores do petróleo, cromatografia gasosa acoplada à
espectrometria de massas, avaliação temporal / Rayane Maria do
Nascimento. – Recife, 2019.
44 f.: il.

Orientador(a): Jandyson Machado Santos.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Recife,
BR-PE, 2019.
Inclui referências.

1. Biomarcadores do petróleo 2. Espectrometria de massas
3. Cromatografia gasosa 4. Avaliação temporal I. Santos, Jandyson
Machado, orient. II. Título

CDD 540

AVALIAÇÃO TEMPORAL DE BIOMARCADORES DE PETRÓLEO
EMPREGADOS NO ESTUDO DE DERRAMES SIMULADOS EM AMBIENTES
TERRESTRES

Monografia apresentada como pré-requisito de conclusão do Curso de Licenciatura
Plena em Química, da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

APROVADO EM ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jandyson Machado Santos – UFRPE

Orientador

Profa. Dr. André Fernando Lavorante – UFRPE

Primeiro Examinador

Prof. Dr. Alex Souza Moraes – UFRPE

Segundo Examinador

RECIFE – 2019

RESUMO

O petróleo é a principal fonte de energia do mundo e os desdobramentos das atividades envolvidas na sua extração, transporte e refino são passíveis de riscos de contaminações ao meio ambiente, gerando impactos ambientais. Diante disso, buscando compreender a problemática voltada aos impactos gerados por derrames de petróleo no meio ambiente, têm surgido estudos que visam avaliar as alterações que os constituintes químicos do petróleo podem sofrer frente aos derrames. Este estudo teve o objetivo de avaliar de forma temporal as alterações na composição química dos biomarcadores clássicos do petróleo, através da aplicação de um sistema de foto-oxidação em laboratório para simulação de derrames em ambientes terrestres, sendo realizadas análises químicas através do uso da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). As simulações de derrames foram realizadas utilizando uma mistura de óleo:solo (1:40, *m/m*), sendo a mistura submetida ao sistema de foto-oxidação de bancada, contendo lâmpadas que emitem na faixa de comprimento de onda da radiação solar. Numa avaliação temporal, de 0 a 72 horas, alíquotas do sistema óleo:solo foram retiradas, o óleo foi extraído e a sua fração de saturados submetida a análise por CG/EM, onde os resultados foram avaliados comparando os dados obtidos do óleo bruto antes da exposição ao sistema de foto-oxidação e após as exposições. O processamento dos cromatogramas gerados mostraram que após as primeiras horas de exposição, houve uma redução nas áreas referentes a hidrocarbonetos lineares de menor massa molecular, devido a processos de evaporação, além disso, houve alterações importantes nas razões diagnósticos de biomarcadores, tais como: Pristano e Fitano (Pr/Ft), Pr/*n*-C₁₇ e Ft/*n*-C₁₈, o que inicialmente sugere que as primeiras horas de exposição do óleo bruto a um derrame em ambiente terrestre já é suficiente para ocorrer as primeiras alterações químicas. Alterações relevante também foram identificadas nas razões diagnósticas envolvendo os biomarcadores das classes de terpanos e esteranos. Com isso, foi possível identificar alterações químicas em diferentes classes de biomarcadores clássicos de um óleo bruto submetido a simulações de derrames, podendo esse estudo auxiliar em trabalhos futuros que visem à avaliação de processos de remediação de ambientes terrestres que sofreram contaminação em decorrência de derrames reais.

Palavras chaves: Biomarcadores do petróleo, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, avaliação temporal.

AGRADECIMENTOS

À Deus por estar comigo todo tempo, pelo seu infinito amor e graça iluminando a minha vida a cada dia que Ele me permite estar aqui. Sem Ele nenhum passo dado nessa caminhada existiria.

À minha família, meu pai, José, minha mãe, Lenilda, minha irmã, Ingrid pelo apoio, compreensão e amor incondicional dado durante todos esses anos de estudos. Por me incentivar desde de muito nova a acreditar que é possível mudar e conquistar melhores lugares quando você tem educação. Esse trabalho é fruto do cuidado e dedicação de vocês também.

A Acson, meu namorado, por todo companheirismo, paciência, por compreender minhas aflições e estar ao meu lado tornando essa caminhada mais leve, com seu bom humor, carinho e cuidado.

Aos meus amigos da faculdade, Arthur, Raphaela, Libna, Danylo, Carol, André, Natanael e Camila por partilharem muitas das dificuldades, momentos de conquista, medos, decepções e vitórias. Tive muita sorte de viver momentos únicos com vocês que não serão esquecidos.

Aos meus amigos Emerson, Stephanie Gabriela e Erilane por estarem comigo durante esses anos, pela amizade sincera e por serem os braços que me acolheram nos momentos difíceis quando eu não podia me conter mais em mim e acabava transbordando, gratidão por tudo.

Aos meus professores de graduação que me permitiram ver sob diferentes perspectivas esse nobre e valioso ofício que é a docência, por me mostrar que a vida não é fácil e que o jogo sempre pode virar.

Por fim, o meu mais sincero obrigado ao prof. Jandyson, meu orientador, por sua paciência, ensinamentos, pela presença constante e pelas contribuições valiosas dadas durante o processo de construção desse trabalho.

A todos, gratidão!

Lista de Figuras

Figura 1. Estágios evolutivos da matéria orgânica em petróleo (óleo e gás).....	12
Figura 2. Estrutura dos principais isoprenóides, Pristano e Fitano.....	15
Figura 3. Estrutura do terpano tricíclico, terpano tetracíclico e terpanopentacíclico, respectivamente.....	15
Figura 4. Estrutura do esterano regular, Diasterano e 4-metil-esterano, identificado no cromatograma MSI respectivamente pelos íons m/z 217, 257 e 231.....	15
Figura 5. Esquema dos componentes de um cromatógrafo acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM).....	18
Figura 6. Exemplo de um cromatograma.....	19
Figura 7. Esquema de hifenação de quadrupolos (triploquadrupolo) no espectrômetro de massa.....	20
Figura 8. Espectro de massas genérico para uma amostra de óleo bruto obtido por CG/EM.....	21
Figura 9. Cromatograma total de íons (TIC) de uma amostra de petróleo.....	21
Figura 10. Cromatograma Seletivo de íons de uma amostra de óleo bruto para a m/z 217.....	22
Figura 11. Cromatograma de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM) da amostra de óleo bruto para 11 diferentes transições.....	22
Figura 12. Sistema piloto para simulação de derrames de petróleo em ambientes terrestres com controle de radiação solar, temperatura, agitação e circulação de ar (à esquerda). Sistema em operação (à direita). A= lâmpadas brancas; B= lâmpadas de ultravioleta; C= lâmpadas azuis e D = coolers de ar para dentro.....	26
Figura 13. TIC do óleo bruto (preto) e óleo após simulação de derrame e exposição de 3h (rosa), e ampliação da região referente ao n -C ₁₂ e n -C ₁₄	29
Figura 14. Representação gráfica das áreas totais dos picos cromatográficos após exposição.....	29
Figura 15. Representação gráfica do comportamento do CPI durante o tempo de exposição.....	31

Figura 16. Representação gráfica da razão Pr/Ft durante o tempo de exposição.....	32
Figura 17. Representação gráfica da razão Pr/n-C ₁₇ durante o tempo de exposição.....	32
Figura 18. Cromatograma representando o monitoramento de diversas transições de <i>m/z</i> obtido por CG/EM pelo modo MRM.....	33
Figura 19. Transição específica de <i>m/z</i> 370 para <i>m/z</i> 191 referente aos biomarcadores Ts e Tm.....	34
Figura 20. Representação gráfica das razões entre biomarcadores Ts e Tm para análise da evolução térmica do óleo em estudo.....	36
Figura 21. Representação gráfica da razão entre Gamacerano e 17 α (H),21 β (H) - hopano para análise de hipersalinidade do meio deposicional.....	37
Figura 22. Representação gráfica das razões entre homo-hopanos para análise da maturação do óleo.....	40
Figura 23. Representação gráfica das razões entre Colestanos (C27, Cho) (A) , Ergostanos (C28, Erg) (B) e Estigmastanos (C29, Stg) (C) para análise de deposição de matéria orgânica.....	41
Figura 24. Representação gráfica da razão entre Esteranos e Terpanos para análise de deposição da matéria orgânica.....	42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1 PETRÓLEO E SUA ORIGEM	12
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO PETRÓLEO.....	13
2.2.1 Biomarcadores do Petróleo.....	14
2.2.2 Derrames de Petróleo e Foto-oxidação.....	16
2.3 A CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG/EM).....	17
3. OBJETIVOS	23
3.1 GERAL	23
3.2 ESPECÍFICOS.....	23
4. MATERIAS E MÉTODOS.....	24
4.1 AMOSTRAS E REAGENTES.....	24
4.2 SIMULAÇÃO DE DERRAME E PREPARO DE AMOSTRA.....	24
4.3 ANÁLISES POR CG/EM.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1 <i>n</i> -ALCANOS LINEARES.....	27
5.2 CPI (ÍNDICE PREFERENCIAL DE CARBONO)	29
5.3 RAZÃO DE ISOPRENÓIDES	30
5.4 RAZÃO ISOPRENÓIDES E <i>n</i> -ALCANOS.....	31
5.5 RAZÃO DE TERPANOS E ESTERANOS.....	32
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

O petróleo, comumente chamado de óleo bruto, é a mais utilizada fonte de energia do mundo e junto com o gás natural, subproduto da indústria do petróleo, alimentam mais de 60% das necessidades energéticas da economia industrial (AQUINO & COSTA, 2011). Historicamente, o Brasil aparece como um dos maiores produtores de petróleo do mundo, tanto em terra (*onshore*) quanto em mar (*offshore*), além de despontar como um dos países promissores na manutenção e ampliação da produção, após as recentes operações que envolvem a exploração e produção de óleos em águas ultra profundas e do pré-sal, principalmente aqueles da Bacia de Campos (ANP, 2018). Assim, devido à intensa necessidade de exploração, produção e transporte, a indústria petrolífera também está atrelada a acidentes envolvendo o derrame de petróleo e seus derivados.

A problemática dos impactos socioambientais gerados pelo derrame de petróleo no meio ambiente é algo presente desde sua descoberta até os dias atuais. Aquino & Costa (2011) e Rodrigues (2005) citam alguns dos inúmeros impactos causados pelo derrame de petróleo no ambiente, que são: I – o impacto ocasionado, logo após o incidente do vazamento, pelo derramamento de petróleo no ambiente, seja ele marítimo ou continental, é evidenciado qualitativamente pela morte de inúmeros representantes da fauna e flora local; II - os danos à saúde do trabalhador nos ambientes de trabalho quando expostos a fatores de risco, em função da sua natureza (físico, químicos e biológicos), concentração, intensidade e tempo de exposição; III - contaminação dos lençóis freáticos e aquíferos subterrâneos, causadas por perdas dos fluidos de perfuração para as formações geológicas durante a perfuração.

Com isso, considerando a necessidade de estudo neste contexto e a busca por possíveis contribuições na área, este trabalho é baseado na busca, sob uma perspectiva exploratória, pelo desenvolvimento de inovações científicas e tecnológicas aplicadas a estudos de derrames simulados de óleos brutos, buscando investigar as alterações químicas de biomarcadores do petróleo por meio do monitoramento temporal. Tendo como seguinte **projeto de pesquisa: Quais as alterações químicas que podem ocorrer de forma temporal em biomarcadores do petróleo expostos a simulação de derrames em ambiente terrestre?** Espera-se que as metodologias e estratégias geradas possam nortear órgãos ambientais brasileiros e indústrias petrolíferas no que tange a necessidade de estudos e investigações em termos de acidentes envolvendo derrames de óleos em nosso país.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PETRÓLEO E SUA ORIGEM

O petróleo é uma mistura sólida, líquida e gasosa, complexa, de ocorrência natural, formada predominantemente por hidrocarbonetos e outros compostos orgânicos. De forma geral, apresenta quantidades significativas de nitrogênio, enxofre e oxigênio, além de pequenas quantidades de níquel, vanádio e outros elementos (TISSOT & WELTE, 1984).

Segundo a teoria da biogênese da formação do petróleo, sua origem é proveniente de material orgânico por diferentes processos térmicos e microbiológicos (Speight, 2002), sendo resultado das várias transformações da matéria orgânica advinda de uma massa de vegetais e animais que foram decompostos por fatores físicos, químicos e biológicos, e posteriormente sofreram soterramento. Após milhões de anos, por estágios de transformação denominados diagênese, catagênese e metagênese, essa matéria orgânica sedimentada teria se convertido em petróleo (ARAUJO, 2007). A **Figura 1** esquematiza esses estágios de transformação citados.

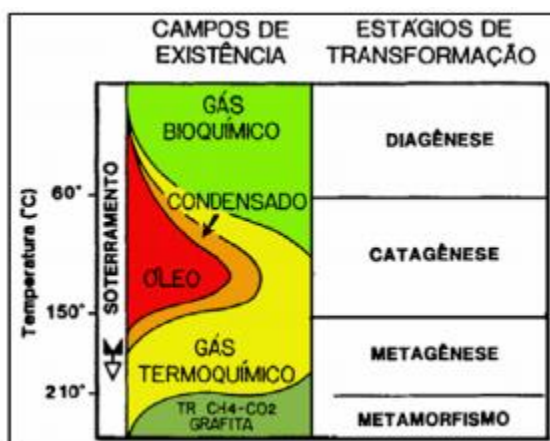


Figura 1. Estágios evolutivos da matéria orgânica em petróleo (óleo e gás).

Fonte: Adaptado de Tissot & Welte (1984).

Na diagênese, a matéria orgânica sofre diversas modificações de ordem físico-química e biológica, sendo predominantemente as alterações provocadas por microrganismos, com progressivo soterramento, em temperaturas amenas e baixa pressão. Nela as macromoléculas presentes na biomassa existente, os biopolímeros, tais

como proteínas carboidratos, lipídios e lignina, são degradadas em constituintes que progressivamente são envolvidos em novas estruturas policondensadas ("geopolímeros"), precursoras do *querogênio* (TISSOT & WELTE, 1984). Ao final desse processo, o metano é o componente de maior importância, bem como, a presença de dióxido de carbono, água e heteroátomos pesados, de menor expressividade (TISSOT & WELTE, 1984).

O estágio seguinte consiste na catagênese, em que se caracteriza pela degradação dos componentes do querogênio e formação do petróleo, na qual ocorre uma série de transformações químicas, tais como reações de isomerização, aromatização, quebra de ligações C-C (craqueamento termocatalítico) e descarboxilação, convertendo o querogênio em óleo, com posterior formação de gás metano (REGATO, 2008; SILVA, 2007). Com o progressivo soterramento, com temperaturas de 60-150 °C há o aumento na quantidade de hidrocarbonetos líquidos, à medida que o gás metano se enriquece em outros hidrocarbonetos de baixa massa molecular, a chamada “janela de óleo”. Em seguida, encontra-se a zona de gás úmido, onde se formam hidrocarbonetos progressivamente mais leves (TISSOT & WELTE, 1984).

A metagênese é o estágio em que as condições de soterramento são maiores, sob temperaturas na faixa de 150 °C a 200 °C as moléculas orgânicas são craqueadas em hidrocarbonetos líquidos e gasosos de peso molecular progressivamente menor (PETERS E MOLDOWAN, 1993). Sendo denominado por “janela de gás”, nesse estágio os biomarcadores são drasticamente reduzidos ou completamente transformados em gás natural, predominantemente metano (TISSOT & WELTE, 1984).

2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO PETRÓLEO

A composição química total do petróleo pode ser definida pela presença de cinco classes de hidrocarbonetos, denominadas pela sigla PIONA (Parafinas, Iso-parafinas, Olefinas, Naftênicos e Aromáticos), como definidas a seguir:

- **Parafinas:** são hidrocarbonetos saturados com cadeias lineares (SANTOS, 2013). Segundo Speight (2006), os hidrocarbonetos parafínicos normais (*n*-parafinas, parafinas de cadeia linear) ocorrem em proporções variáveis na maioria dos óleos brutos.

- **Iso-parafinas:** são hidrocarbonetos de cadeias ramificadas (SANTOS, 2013). Os derivados 2- e 3-metil são os mais abundantes, e o derivado de 4-metil está presente em pequenas quantidades. As iso-parafinas ocorrem ao longo do intervalo de ebulição das frações do petróleo (SPEIGHT, 2006).
- **Olefinas:** são hidrocarbonetos insaturados com uma ou mais ligações duplas entre seus átomos de carbono ($R-CH=CH-R$) (SANTOS, 2013).
- **Naftênicos:** foram inicialmente identificados como ácidos carboxílicos em óleos brutos com um ou múltiplos anéis saturados, e é a expressão livremente utilizada para incluir todos os componentes ácidos que possam conter funcionalidade aromática (HSU *et al.*, 2000).
- **Aromáticos:** são hidrocarbonetos caracterizados pela presença de um ou mais núcleos aromáticos em sua estrutura, podendo estar ligados com outro núcleo aromático ou a cadeias parafínicas. Assim, é sabido que a maioria destes compostos aromáticos contém cadeias parafínicas, anéis naftênicos e anéis aromáticos secundários ao lado (SANTOS, 2013).

2.2.1 Biomarcadores do Petróleo

“Biomarcadores ou marcadores biológicos são compostos orgânicos presentes em materiais geológicos [...] cujas estruturas sofreram pouca ou nenhuma alteração em relação às estruturas das substâncias orgânicas presentes na membrana celular dos organismos vivos [...] que lhes deram origem” (ARAÚJO, 2007). Algumas das principais classes de biomarcadores do petróleo são:

n-Alcanos: são hidrocarbonetos saturados acíclicos, usados como biomarcadores devido à sua abundância e facilidade de detecção por cromatografia gasosa (WIEDEMANN, 2006). São geralmente utilizados para prover informações sobre o ambiente deposicional de matéria orgânica (SANTOS, 2013).

Isoprenóides: representados pelo Pristano e Fitano (biomarcadores mais estudados desta classe) (**Figura 2**), correspondem a uma ampla faixa de *n*-alcanos ramificados. São usados para determinar as condições de deposição de matéria orgânica (REGATO, 2008) e também como indicativo do grau de biodegradação dos óleos (SANTOS, 2013).

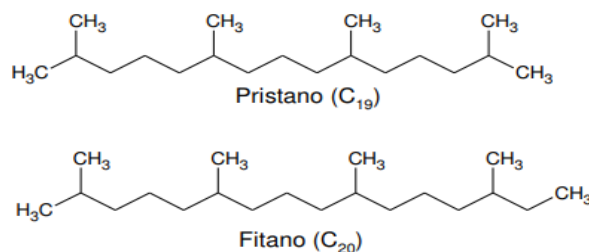


Figura 2. Estrutura dos principais isoprenóides, Pristano e Fitano.

Fonte: Araujo (2007).

Terpanos: são derivados de organismos procariontes. Podem ser divididos em três grupos principais: tricíclicos, tetracíclicos e pentacíclicos (**Figura 3**) (SANTOS, 2013).

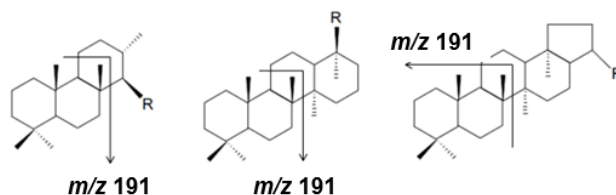


Figura 3. Estrutura do terpano tricíclico, terpano tetracíclico e terpano pentacíclico, respectivamente.

Fonte: Santos (2013).

Esteranos: compostos derivados de esteróis, comumente encontrados em organismos eucariontes (**Figura 4**).

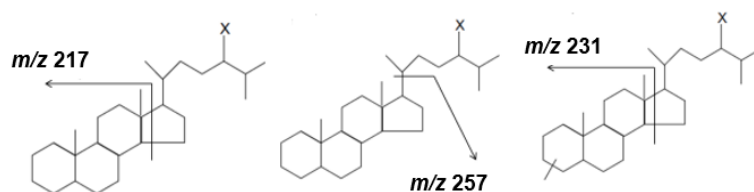


Figura 4. Estrutura do esterano regular, Diasterano e 4-metil-esterano, identificado no cromatograma MSI respectivamente pelos íons m/z 217, 257 e 231.

Fonte: Santos (2013).

2.2.2 Derrames de Petróleo e Foto-oxidação

Uma das grandes dificuldades na avaliação da extensão dos danos de derramamentos de petróleo e/ou derivados no ambiente é, sem dúvida, a identificação da origem do derrame. Alguns autores apontam a relevância da avaliação geoquímica do petróleo na elucidação da composição do petróleo, visto que cada fonte de óleo possui

um perfil químico único, em que a rocha geradora determina grande parte da composição do petróleo (ARAUJO, 2007). Uma estratégia que vem sendo muito utilizada na avaliação ambiental de acidentes envolvendo petróleo e derivados é a partir da identificação de biomarcadores do petróleo (FARIAS, 2006). Segundo Speight (2002):

[...] a distribuição dos isômeros dos biomarcadores pode não só servir como impressões digitais para a correlação óleo-óleo e óleo-fonte (para relacionar a fonte e reservatório), mas também fornecem informações geoquímicas sobre as fontes (marinhas, lacustres ou terrestres), idade, maturidade, ambiente deposicional (por exemplo, argila ou carbonato, níveis de oxigênio, salinidade) e alteração (por exemplo, lavagem com água, biodegradação). (p.5).

A foto-oxidação é um dos principais fatores associados à degradação e mudança composicional do óleo bruto uma vez este lançado no meio ambiente. A radiação solar que corresponde à radiação na faixa do Ultravioleta (≈ 190 a 400 nm), seguida da faixa de luz visível (≈ 400 nm a 700 nm) é responsável por modificar as propriedades físicas e químicas dos hidrocarbonetos que compõem o óleo bruto (THOMINETTE *et al.*, 1984).

Os mecanismos de foto-oxidação não são inteiramente elucidados, porém, alguns estudos sugerem mecanismos envolvidos nas reações de degradação do óleo bruto. Shankar *et al.*, (2014) apresenta dois mecanismos que levam à degradação foto-oxidativa de óleos brutos, que são: mecanismos de reação em cadeia de radicais livres e oxigênio singlete. As reações em cadeias de radicais livres ocorrem apenas na presença de hidrogênios subtraíveis dos hidrocarbonetos presentes no óleo, os quais foram inicialmente sensibilizados pela radiação solar. O radical hidrocarboneto resultante dessa sensibilização reage com o oxigênio formando espécies radicalares muito reativas, os quais sofrem outras reações, gerando por fim compostos oxigenados, tais como aldeídos, cetonas, ácidos (SHANKAR *et al.*, 2014). No mecanismo de oxigênio singlete, a molécula absorvente de luz, transfere sua energia de excitação para uma molécula de oxigênio, resultando em oxigênio singlete. Este oxigênio singlete reage com compostos químicos como hidrocarbonetos aromáticos polinucleares, produzindo peróxidos que se convertem em carbonilas e, eventualmente, hidroxilas.

Em relação aos compostos formados nos processos foto-oxidativos, Radovic *et al.*, (2013) relata em seus trabalhos, a mudança de composição nos componentes químicos

dos óleos após exposição, evidenciando um aumento nos compostos polares, semelhantes as características básicas das resinas e asfaltenos encontrados em óleos brutos. Tendo sugerido a ocorrência da conversão dos compostos aromáticos em mais derivados polares, devido a ocorrência de mecanismos de clivagem oxidativa pela introdução de grupos oxigenados tais como hidroxilas e carbonilas.

Fatos relevantes como a presença de moléculas aromáticas metiladas substituídas, que fotoquimicamente se oxidam mais rápido que os compostos que lhe deram origem, e ao se oxidarem geram compostos tais como álcoois, aldeídos, cetona e ácidos correspondentes, evidenciam o caráter complexo das reações e compostos gerados nos processos fotooxidativos. Outro fator observado nos estudos se relaciona com a maior excitação na foto-oxidação conforme o aumento do grau de alquilações em compostos aromáticos. Isso se deve ao aumento da contribuição à densidade eletrônica do sistema π nas moléculas aromáticas pela presença do grupo alquila, facilitando a excitação dos elétrons do sistema π e conseqüentemente sua fotodegradação (RADOVIC *et al.*, 2013; GARRET, 1998).

A presença de heteroátomos como enxofre e nitrogênio, pode contribuir ou atenuar a foto-oxidação nos quais esses heteroátomos estão ligados. Na presença de enxofre há uma diminuição na foto-oxidação visto que o enxofre é mais preferencialmente oxidado do que os compostos a ele ligados. Quando há nitrogênio em moléculas aromáticas, vemos o caso inverso, há um aumento na foto-oxidação pela contribuição do par eletrônico não ligante do nitrogênio, o qual aumenta a densidade eletrônica do sistema π do anel aromático aumentando a reatividade e conseqüente foto-oxidação (RADOVIC *et al.*, 2013).

Os compostos policíclicos da fração aromática do óleo e seus produtos de foto-oxidação são frequentemente responsáveis pela toxicidade aguda em derrames de petróleo. Plata *et al.*, (2008) relata sobre a sensibilidade e a produção de espécies reativas responsáveis pela elevada toxicidade desses compostos, cujas espécies fotossintetizantes são produzidas no meio reagindo com os compostos policíclicos gerando outras espécies reativas no meio.

2.3 A CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG/EM)

A cromatografia gasosa (CG) consiste em um método físico-químico de separação dos componentes da mistura através de uma fase gasosa móvel por uma fase estacionária, que pode ser líquida ou sólida. É utilizada na separação de compostos que se volatilizam, ou seja, os componentes da mistura devem ter pontos de ebulição de aproximadamente até 300 °C e precisam ser termicamente estáveis nesta condição (AQUINO NETO, 2006).

A **Figura 5** mostra o esquema das partes que compõe um instrumento de cromatografia gasosa (cromatógrafo) acoplada a espectrometria de massa (espectrômetro de massa) (CG/EM). O processo de separação consiste na injeção de uma solução da amostra num injetor com temperatura para vaporizar seus componentes, que são volatilizados e introduzidos, sendo “arrastados” juntamente com a fase móvel, geralmente um gás inerte como o Hélio. Dentro da coluna, devido às interações dos componentes da amostra e a fase estacionária da coluna, os componentes são retidos e separados em tempos característicos, fazendo com que o tempo de saída da coluna e posterior detecção sejam diferentes para eles. Assim, o tempo no qual ocorre a eluição, desde a injeção até a chegada do constituinte até o detector é chamado de *tempo de retenção*. A escolha de um detector adequado, como o detector por ionização em chama, possibilita a detecção e quantificação dos compostos (AQUINO NETO & NUNES, 2003; PETERS&MOLDOWAN, 1993).

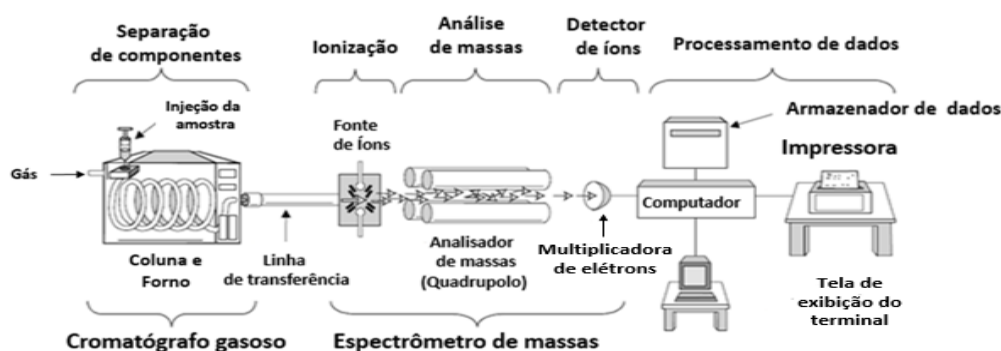


Figura 5. Esquema dos componentes de um cromatógrafo acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM).

Fonte: Adaptado de Speigh (2006).

Ao final da eluição depois de interpretado o sinal amplificado *versus* intensidade do sinal, é gerado um gráfico denominado de **cromatograma (Figura 6)**, cujas representações dessas duas variáveis são na forma de picos. O exemplo mostra a análise

de dois compostos A e B, com tempos de retenção em torno de 30 e 50 min, respectivamente.

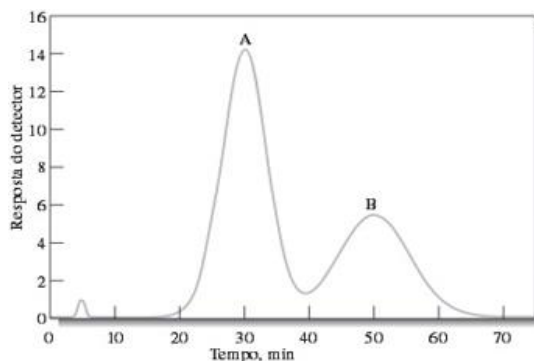


Figura 6 – Exemplo de um cromatograma.

Fonte: Skoog, 2006.

Apesar da cromatografia gasosa fornecer o tempo de retenção dos componentes de uma amostra, ela não fornece informações estruturais de seus componentes. Por isso faz-se o uso da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), permitindo assim a identificação e elucidação estrutural dos compostos em uma análise.

O processo na CG/EM se dá com a introdução dos componentes da amostra, após separação no cromatógrafo gasoso, na câmara de ionização. Dos métodos utilizados, o mais simples é o a ionização por impacto de elétrons, em que um feixe de elétrons de alta energia a partir de um filamento aquecido, atinge um fluxo de moléculas da amostra na unidade de entrada, colidindo, fragmentando e retirando elétrons das moléculas, gerando por fim cátions de carga +1. Esses íons recém-formados, apresentando diferentes massas e com carga, são direcionados para uma série de placas aceleradoras, as quais produzem um feixe de íons positivos que ao interagirem com campo elétrico são acelerados e levados ao analisador de massas sendo selecionados de acordo com sua relação massa/carga (m/z). O componente de detecção, geralmente, é composto por um contador que produz uma corrente proporcional ao número de íons que o atingem (Pavia *et al.*, 2008), sendo a multiplicadora de elétrons a mais utilizada por ampliar o sinal analítico em 10^6 vezes, conferindo maior sensibilidade e precisão no que se quer medir (SKOOG, 2006).

Existem diferentes tipos de analisadores utilizados para diferentes aplicações, tais como o analisador de massas do tipo setor magnético e quadrupolo. Este último, mais comum nos CG-EM “de bancada” consiste em quatro barras cilíndricas paralelas à

direção do feixe de elétrons (PAVIA *et al.*, 2008) (**Figura 5**). A essas barras são aplicadas voltagens de corrente contínua e radiofrequência gerando assim um campo eletrostático oscilante. Os íons gerados com razão m/z muito pequena ou grande demais passam através do analisador com uma oscilação instável, ao ponto que a amplitude da oscilação, faz essas partículas atingirem as barras sem chegarem ao detector. Os íons de massa carga adequada atravessam o percurso entre as barras com oscilação estável de amplitude constante até chegar ao detector, sendo assim detectados.

O analisador de massa do tipo quadrupolo apresenta limites de m/z entre 0 a 1000, sendo considerado um instrumento de baixa resolução, com isso, a necessidade de utilizar instrumentos mais sensíveis e precisos como analisadores de massa do tipo triplo quadrupolo (**Figura 7**), que apresentam um conjunto de três quadrupolos enfileirados (hifenação), potencializa a sensibilidade do instrumento. Cada quadrupolo no analisador apresenta uma função específica: o primeiro quadrupolo (q1) seleciona os íons vindos da fonte de ionização pela m/z adequada; o segundo quadrupolo (Q2) é a região/cela de fragmentação dos íons selecionados, gerando novos íons, enquanto que no terceiro quadrupolo (q3) ocorre à separação da m/z específica dos íons provenientes da fragmentação. Com o uso do analisador triplo quadrupolo é possível realizar análises de componentes traços de matrizes complexas, além de realizar um número maior de análises com maior seletividade e sensibilidade.

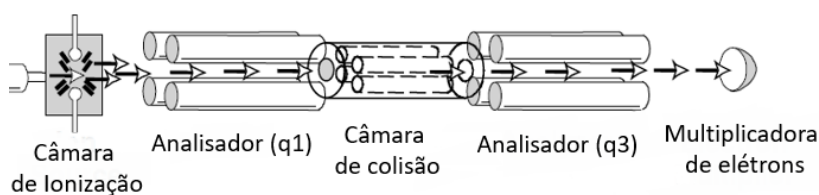


Figura 7. Esquema de hifenação de quadrupolos (triplo quadrupolo) na CG/EM.

Fonte: Adaptado de Peter & Moldowan (1993).

Para os instrumentos de CG/EM, além dos cromatogramas, são gerados espectros de massas para os picos cromatográficos, como se vê na **Figura 8**. Assim, o espectro de massas pode auxiliar na elucidação estrutural dos componentes de interesse, juntamente com o tempo de retenção obtido na análise cromatográfica. Os modos de aquisição na CG/EM podem ser: FULL SCAN, SIM (*Selected Ion Monitoring* – Monitoramento de Íon Seletivo) e MRM (*Multiple Reaction Monitoring* - Monitoramento de Reações

Múltiplas). No modo FULL SCAN, há a leitura de uma ampla faixa de m/z para que se obtenha o perfil dos fragmentos formados devido à quebra de ligações, através do qual pode ser obtido o TIC (*Total Ion Chromatogram* – Cromatograma de Íons Totais) (**Figura 9**). No Modo SIM, há a seleção de uma específica m/z , no qual se é obtido o cromatograma de Monitoramento Seletivo de Íons (**Figura 10**). No modo MRM (**Figura 11**), é gerado o cromatograma do Monitoramento de Reações Múltiplas, permitindo análises simultâneas de um grande número de m/z em uma amostra com alta seletividade e sensibilidade.

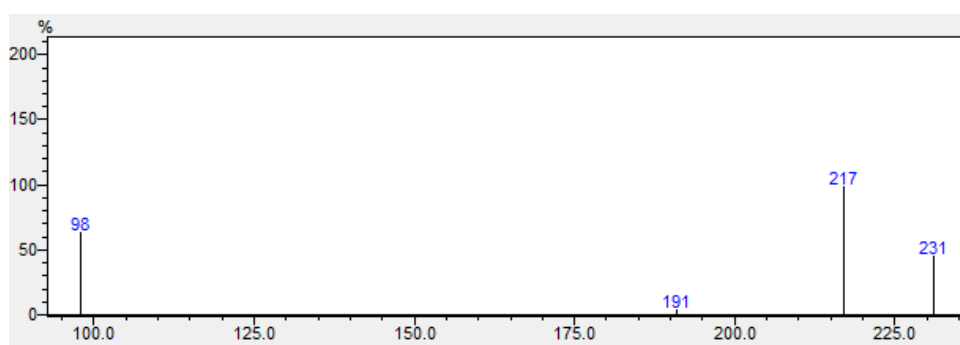


Figura 8. Espectro de massas genérico referente a um pico cromatográfico de uma análise por CG/EM de uma amostra de óleo bruto para uns compostos com m/z 231 e seus respectivos fragmentos.

Fonte: Própria.

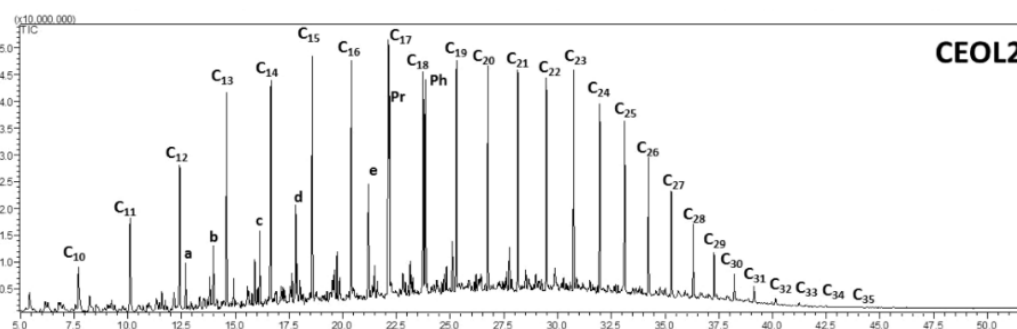


Figura 9. Cromatograma total de íons (TIC) de uma amostra de petróleo.

Fonte: Santos (2017).

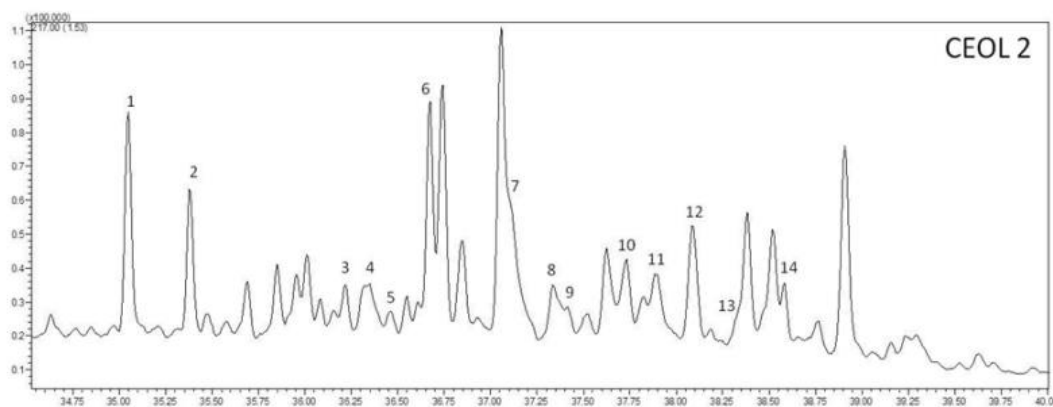


Figura 10. Cromatograma Seletivo de íons de uma amostra de óleo bruto para a m/z 217.

Fonte: Santos (2013).

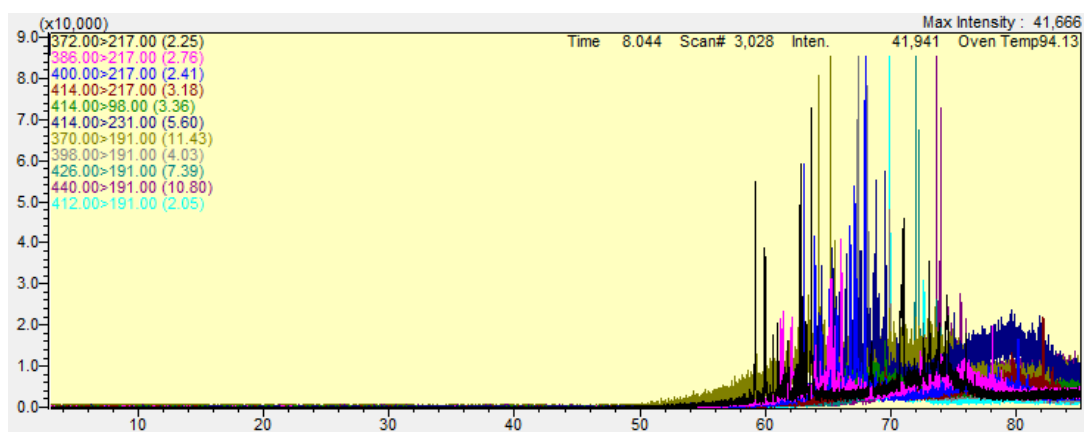


Figura 11. Cromatograma de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM) da amostra de óleo bruto para 11 diferentes transições de m/z .

Fonte: Própria.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo tem como objetivo avaliar de forma temporal as alterações na composição química dos biomarcadores clássicos do petróleo, através da aplicação de um sistema de foto-oxidação em laboratório para simulação de derrames em ambientes terrestres, utilizando estratégias de análise de dados com a técnica de CG/EM. Pretende-se avaliar as potencialidades de diferentes classes de biomarcadores do petróleo mediante derrames simulados em laboratório para obtenção de estratégias rápidas, confiáveis e inovadoras para a área de geoquímica orgânica ambiental do petróleo, criando-se protocolos de análises que possam ser efetivos na elucidação de derrames reais, dando suporte às agências ambientais do nosso país, como também a iniciativa privada voltada para a produção petrolífera.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer e aplicar condições simuladas de um derrame de petróleo em ambientes terrestre com câmara de foto-oxidação, avaliando os impactados causados por exploração *onshore* de petróleo;
- Realizar análises por CG/EM para o estudo de fontes de óleos poluidoras de ambientes terrestres contaminados com derrames de óleos em função de simulações realizadas em laboratório;
- Avaliar de forma temporal as mudanças químicas de biomarcadores clássicos de petróleo e suas razões de diagnósticas em um processo simulado de derrame de óleo em ambiente terrestre.

4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1. AMOSTRAS E REAGENTES. A amostra de óleo bruto que foi utilizada neste trabalho é proveniente da Bacia Sedimentar Sergipe-Alagoas e foi cedida pela Unidade Operacional de Exploração e Produção de Sergipe e Alagoas da Petrobras (UO-SEAL). O óleo foi coletado direto da linha de produção em uma garrafa de vidro com capacidade para 20 L. Aguardaram-se alguns instantes até a separação natural da fase aquosa a qual foi retirada pela parte inferior da garrafa. O óleo sobrenadante foi então transferido para uma bombona plástica com capacidade para 5 L e em seguida as amostras foram encaminhadas ao laboratório. No laboratório uma alíquota de ~40 mL do óleo foi imediatamente centrifugada à 2500 rpm, afim de retirar os resíduos de água advindos do procedimento de exploração e finalmente acondicionados em frasco de vidro hermeticamente vedados com septo de PTFE/Silicone. As principais propriedades físico-químicas do óleo bruto utilizado nesse estudo são: densidade de 0.9363 g ml^{-1} e °API de 19,63, sendo classificado como um óleo pesado segundo a Agência nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (SANTOS, 2013).

4.2. SIMULAÇÃO DE DERRAME E PREPARO DE AMOSTRA. Para as simulações realizadas em laboratório foi utilizado um solo proveniente da região agrícola da Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Carpina (EECAC), unidade de pesquisa da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) localizada em Carpina/PE ($7^{\circ}51'13''\text{S}$, $35^{\circ}14'10''\text{W}$), com propriedades físico-químicas descritas na **Tabela 1**. A simulação do derrame foi realizada em laboratório, utilizando uma mistura 40:1 (*m/m*) de solo:óleo. Em um béquer de 250 mL foram adicionados 100 g solo e imediatamente colocado sobre exposição num sistema de foto-oxidação (SILVA, 2019), com 2,5 g do óleo bruto, sendo o sistema misturado até obter uniformidade na textura e na cor do solo. A simulação foi realizada com incidência direta de lâmpadas com luz branca, azul e no ultravioleta, simulando a intensidade e distribuição espectral da radiação solar, compreendendo uma região do espectro eletromagnético na faixa de 350-800 nm, em sistema de escala piloto (**Figura 12**). Durante a simulação do derrame, alíquotas de 5 g da mistura solo:óleo foram retiradas do sistema em 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36 e 72 horas, visando uma avaliação temporal. As alíquotas foram submetidas ao processo de extração do óleo com 30 mL de *n*-hexano/diclorometano/metanol (7:2:1 v/v/v) em uma coluna aberta de vidro de 1,5 cm de diâmetro.

Após a extração do óleo, o mesmo foi fracionado para obtenção da fração de saturados. Assim, 10 mg do óleo bruto foram transferidos para o topo de uma coluna cromatográfica de 12,5 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro, preenchida com 500 mg de sílica, a qual foi previamente ativada a 400 °C por 4 h em mufla e desativada pela adição de 5% (*m/m*) de água destilada, sendo o empacotamento realizado com auxílio de *n*-hexano. A eluição foi feita com 2 mL de *n*-hexano, sendo a fração eluída coletada em frascos de vidros (previamente pesados em balança). Após secagem da fração, foi realizada a pesagem e verificada a porcentagem da fração de saturados. Por fim, tanto para as frações de saturados do óleo bruto, quanto as das sete alíquotas extraídas do solo, foram preparadas soluções em balão volumétrico de 1 mL, contendo 10 mg da amostra dissolvidas em *n*-heptano até aferição, com concentração final de 10 mg mL⁻¹ (PRATA, 2016).

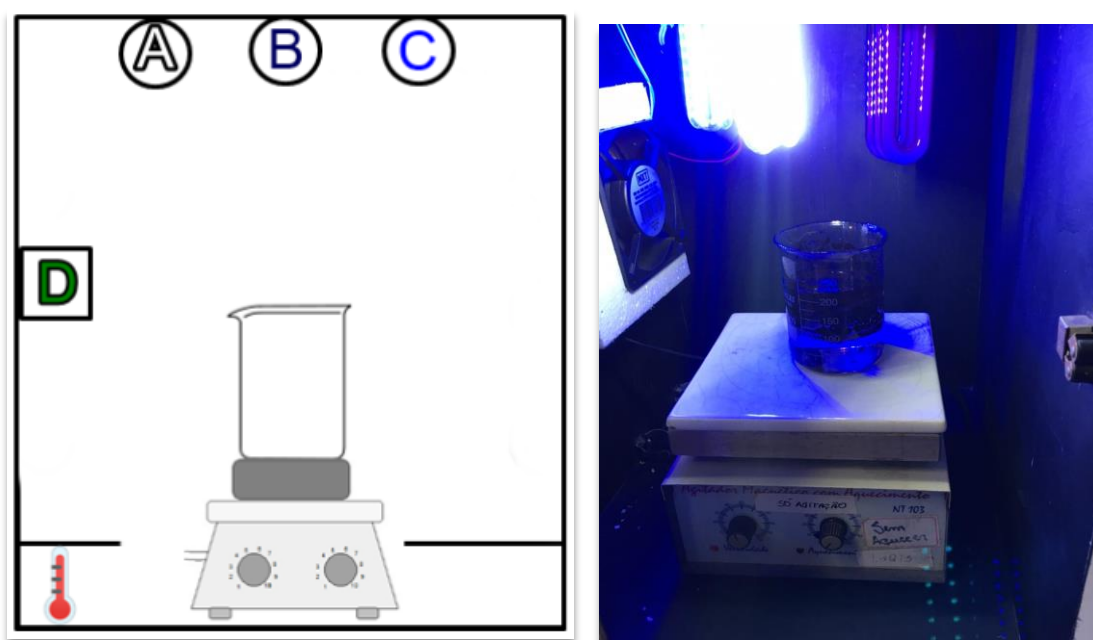


Figura 12. Sistema piloto para simulação de derrames de petróleo em ambientes terrestres com controle de radiação solar, temperatura, agitação e circulação de ar (à esquerda). Sistema em operação (à direita). A= lâmpadas brancas; B= lâmpadas de ultravioleta; C= lâmpadas azuis e D = coolers de ar para dentro.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos da amostra de solo.

AREIA GROSSA (%)	51
AREIA FINA (%)	25
SILTE (%)	11
ARGILA (%)	13
UMIDADE RESIDUAL (%)	2,50
pH em água	5,80
Ca (mgL⁻¹)	300,585
Mg (mgL⁻¹)	182,280
Na (mgL⁻¹)	18,392
K (mgL⁻¹)	35,191
Al (mgL⁻¹)	13,491

4.3. ANÁLISES POR CG/EM. As análises foram realizadas em um CG/EM (modelo TQ8040, Shimadzu co., Japan), utilizando ionização por impacto de elétrons (EI) com 70 eV, de acordo com condições apresentadas na **Tabela 2**. As amostras foram analisadas nos modos: varredura linear (SCAN) e monitoramento de reações múltiplas (MRM). Para a análise no modo SCAN, foi utilizado uma faixa de detecção de 40 a 550 Daltons. Para a análise por MRM, foram monitoradas as transições em m/z 370>191, 372>217, 386>217, 398 >191, 400>217, 412>191, 414>217, 414>98, 414>231, 426 >191 e 440>191 referentes aos íons característicos das classes dos biomarcadores: terpanos pentacíclicos, terpanos tricíclicos e tetracíclicos, esteranos regulares, 4-metil-esterano e diasteranos, respectivamente, sendo os resultados apresentados na forma do cromatograma de monitoramento de reações múltiplas (MRM) (PRATA, 2016).

Tabela 2. Parâmetros cromatográficos aplicados na análise de óleo bruto e suas alíquotas da simulação de derrame em ambiente terrestre por CG/EM

Coluna	(SH-RTX-5SILMS; 30,0 m x 0,25 um, x 0,25mm)
Programação de temperatura do forno	70 °C até 325 °C (3 °C/ min)
Temperatura do Injetor	300 °C
Modo de Operação	Split
Gás de Arraste	Hélio
Fluxo do gás de arraste	14 mL/min (61,3 Kpa)
Temperatura da Interface	290 °C
Volume de injeção	1 µL
Tempo de Análise	85,0 min

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento do óleo bruto e das alíquotas originou aproximadamente 50% da fração de saturados, que foi então analisada por CG/EM. Os dados por CG/EM foram adquiridos no modo FULL SCAN, gerando como resultado o cromatograma total de íons (TIC, do inglês *Total Ion Chromatogram*), que representa a soma de intensidades de todos os picos espectrais pertencentes à mesma varredura, como pode ser visto no exemplo representativo da **Figura 13** referente ao TIC para o óleo bruto e alíquota de exposição de 3 horas ao sistema de simulação de derrame. Como esperado, é possível notar nos cromatogramas a distribuição característica de picos referentes aos hidrocarbonetos do petróleo. Assim, todos os TIC's obtidos por CG/EM foram processados e analisados com base na comparação do óleo bruto inicial e suas alíquotas após as exposições, onde foram avaliadas as possíveis mudanças químicas de biomarcadores de petróleo e suas razões de diagnósticos, como discutido nas seções abaixo:

5.1 *n*-ALCANOS LINEARES

A primeira etapa do processamento foi realizada a partir da integração das áreas dos picos dos cromatogramas, as quais representavam os *n*-alcanos lineares (*n*-C₁₂ e *n*-C₃₅) presentes no óleo (**Figura 13**). A partir da soma das áreas para os *n*-alcanos lineares, como mostra a **Figura 14**, é possível notar um aumento da área total dos picos (valores sumarizados na **Tabela 3**) conforme o aumento no tempo de exposição do óleo bruto ao solo no sistema de foto-oxidação. Este comportamento pode-se atribuir ao intemperismo fotoquímico, causado por reações de foto-oxidação nos hidrocarbonetos. Esse aumento na área dos picos dos *n*-alcanos é também verificado visualmente através do TIC (**Figura 13**), quando comparamos o óleo bruto *versus* o óleo após simulação de derrame e exposição de 3h. Na expansão desses cromatograma, também é observado a perda de componentes de menor massa molecular (*n*-alcanos com 12 e 13 carbonos, *n*-C₁₂ e *n*-C₁₃, respectivamente), visto ausência/diminuição dos picos correspondentes nos cromatogramas, devido à perda desses compostos por evaporação durante o processo de exposição ao derrame simulado.

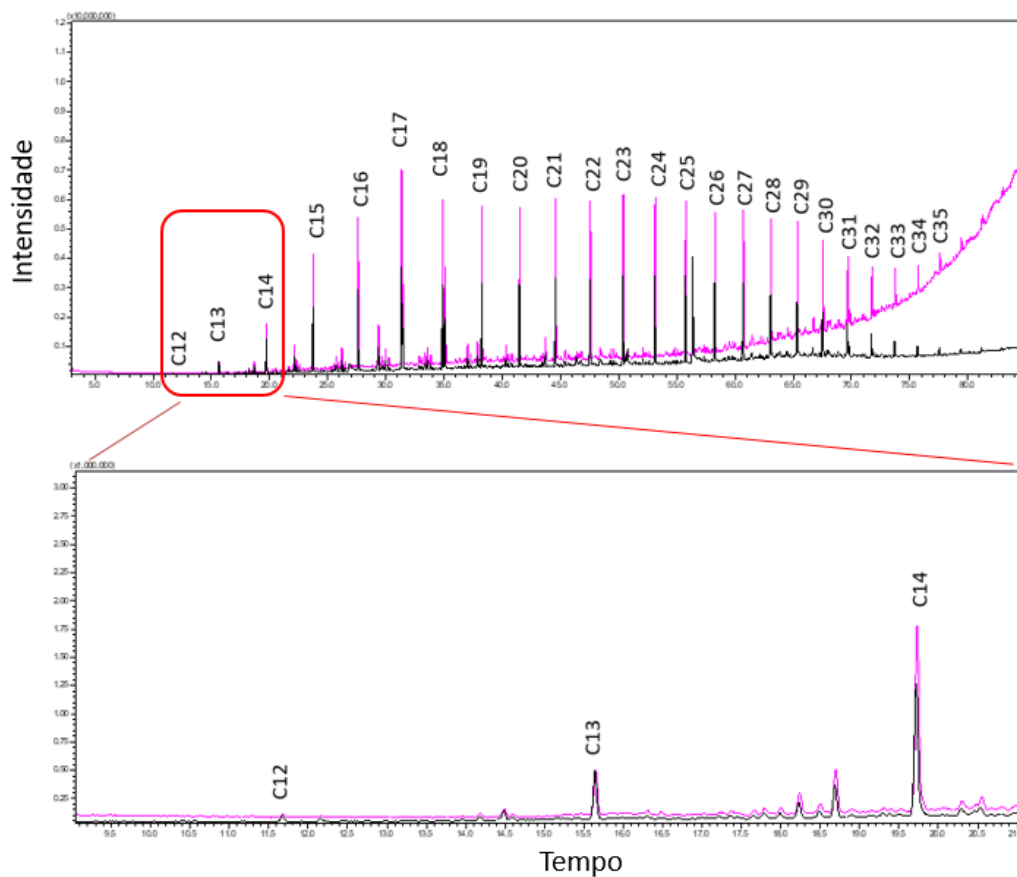


Figura 13. TIC do óleo bruto (preto) e óleo após simulação de derrame e exposição de 3h (rosa), e ampliação da região referente ao n -C₁₂ e n -C₁₃.

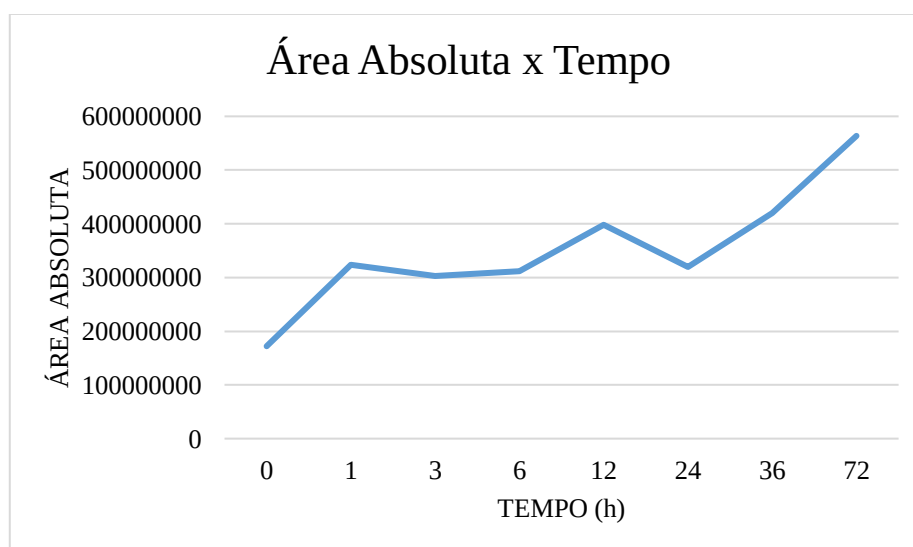


Figura 14. Representação gráfica das áreas totais dos picos cromatográficos após exposição.

5.2 CPI (ÍNDICE PREFERENCIAL DE CARBONO)

A partir das áreas dos componentes individuais do TIC referente aos biomarcadores da classe dos *n*-alcanos lineares e isoprenídeos é possível calcular os valores de CPI e as razões de isoprenóides (Pristano/Fitano, Pr/*n*-C₁₇ e Ft/*n*-C₁₈) para a amostra de óleo bruto em ambiente terrestre pós simulação de derrame, que estão descritos na **Tabela 3**.

Tabela 3. Valores da área dos picos cromatográficos, CPI, razões entre Pristano/Fitano, razão Pristano/*n*-C₁₇ e razão entre Fitano/*n*-C₁₈

AMOSTRA	HORAS	ÁREA	CPI	Pr/Ft	Pr/ <i>n</i> -C ₁₇	Ft/ <i>n</i> -C ₁₈
Óleo bruto	0	172071427	1,05	0,78	0,67	1,03
Alíquota 1	1	323906137	1,05	0,77	0,65	1,04
Alíquota 2	3	303056316	1,05	0,77	0,63	1,03
Alíquota 3	6	311394279	1,05	0,78	0,64	1,03
Alíquota 4	12	398143728	1,05	0,77	0,64	1,04
Alíquota 5	24	319980059	1,04	0,76	0,64	1,03
Alíquota 6	36	420071082	1,07	0,75	0,64	1,03
Alíquota 7	72	563669983	1,04	0,76	0,64	1,03

O índice do CPI (Índice Preferencial de Carbono) é uma relação entre os *n*-alcanos ímpares e os *n*-alcanos pares determinando o grau de parafinidade de um óleo. Este índice foi expresso na equação de Peter e Moldowan, (1993) (**Equação 1**) a qual representa a predominância de *n*-parafinas ímpares e pares.

$$CPI = \frac{\frac{C_{25}+C_{27}+C_{29}+C_{31}+C_{33}}{C_{26}+C_{28}+C_{30}+C_{32}+C_{34}} + \frac{C_{25}+C_{27}+C_{29}+C_{31}+C_{33}}{C_{24}+C_{26}+C_{28}+C_{30}+C_{32}}}{2} \quad (1)$$

Equação de CPI (PETER E MOLDOWAN, 1993).

O parâmetro do CPI caracteriza a quantidade e ambiente o qual foi depositada a matéria orgânica, sendo expresso em valores acima ou abaixo de 1. Para óleos com resultados maiores que 1 (CPI>1), sugere predominância de *n*-parafinas ímpares

característico de óleo de origem lacustre, e óleo com $CPI < 1$ indicam predominância de *n*-parafinas pares sobre as ímpares, evidenciando origem em ambientes marinhos. Os resultados de valores de CPI da **Figura 15** e **Tabela 3** mostram que não houve variações evidentes nos valores obtidos de CPI, com exceção das últimas três horas. Assim, todas as alíquotas pós exposição se mantiveram com $CPI > 1$, valores próximos ao obtido para o óleo bruto inicial, sugerindo origem lacustre para o mesmo, evidenciando um conteúdo predominantemente de *n*-parafinas ímpares.

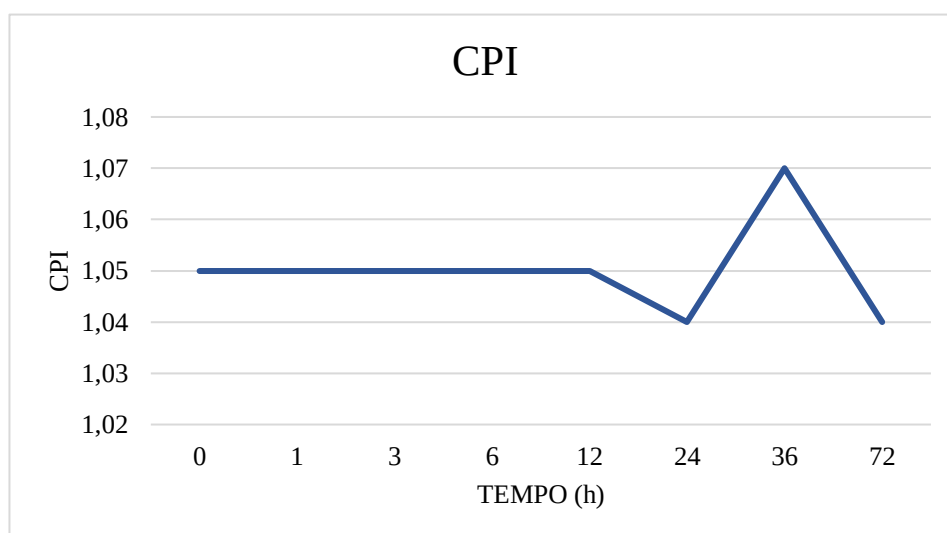


Figura 15. Representação gráfica do comportamento do CPI durante o tempo de exposição.

5.3 RAZÕES DE ISOPRENÓIDES

Os isoprenóides Pristano e Fitano são os hidrocarbonetos mais estudados da classe dos biomarcadores clássicos do petróleo. Sua origem mais comum é atribuída a degradação da clorofila. A razão Pr/Ft, segundo alguns autores, revela o ambiente deposicional da matéria orgânica geradora do petróleo. Peters *et al.*, (2005) apresenta os valores da razão Pr/Ft mais encontrados variando numa faixa de 0,8 a 3,0, em que valores menores que 1 indicam condições de ambiente anóxicos, hipersalinos ou carbonáticos, enquanto que para valores maiores que 1, seriam ambientes oxidados característicos de matéria orgânica terrestre. Os resultados obtidos em nosso estudo (**Figura 16 e Tabela 3**) demonstraram uma diminuição na razão Pr/Ft durante o tempo de exposição, revelando um aumento na predominância de Fitano. Esse aumento foi encontrado devido ao

aumento nas áreas dos picos do Pristano e Fitano, porém, com valores mais elevados para este último, o que ocasionou uma redução na razão. Isso indica que o processo de foto-oxidação associada à interação do óleo bruto com o solo preferencialmente aumenta as quantidades de Fitano no mesmo.

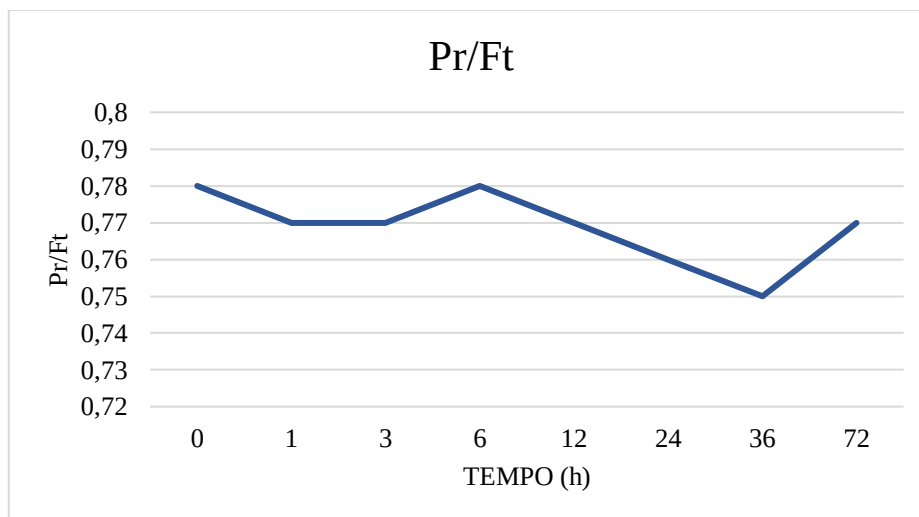


Figura 16. Representação gráfica da razão Pr/Ft durante o tempo de exposição.

5.4 RAZÃO ISOPRENÓIDES E *n*-ALCANOS

Segundo Azevedo *et al.*, (2009) os *n*-alcanos são preferencialmente degradados em relação aos outros compostos, tais como os isoprenóides acíclicos, Pristano e Fitano. Assim, as razões entre os isoprenóides, Pristano e Fitano, e os *n*-alcanos (Pristano/*n*-C₁₇ e Fitano/*n*-C₁₈) são utilizadas para avaliar o grau de biodegradação. Através dos resultados obtidos, como é mostrado na **Figura 17** e dados sumarizados na **Tabela 3**, foi verificada uma diminuição da razão do Pr/*n*-C₁₇, apesar dos resultados terem mostrado um aumento na área do Pristano quanto do *n*-C₁₇, é percebido um aumento menos acentuado da área do pico do Pristano, principalmente com 1h e 3h de exposição, podendo então ser atribuída essa queda da razão Pr/*n*-C₁₇ a oxidação fotoquímica do Pristano. Diferentemente da razão de Pr/*n*-C₁₇, a razão de Ft/*n*-C₁₈ apresentou variações muito bruscas, como é observado na **Tabela 3**, porém, se manteve constante nas últimas horas de exposição, gerando para esta razão diagnóstica, resultados inconclusivos sobre como a exposição afetou a composição do óleo na matriz terrestre.

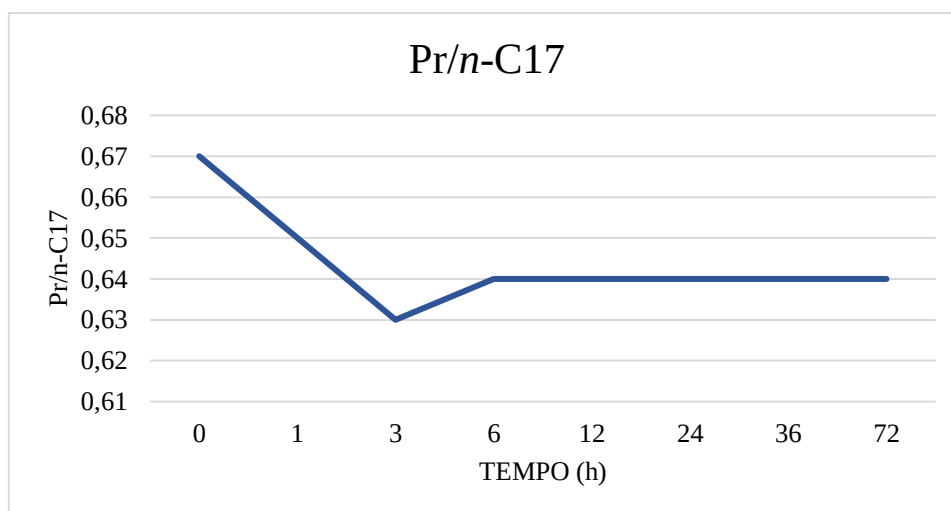


Figura 17. Representação gráfica da razão Pr/n-C₁₇ durante o tempo de exposição.

5.5 RAZÃO DE TERPANOS E ESTERANOS

Os dados obtidos a partir do modo de aquisição por MRM no CG/EM apresenta como resultado gráfico o cromatograma de MRM (**Figura 18**) para diversas transições de m/z referentes às classes de biomarcadores terpanos e esteranos.

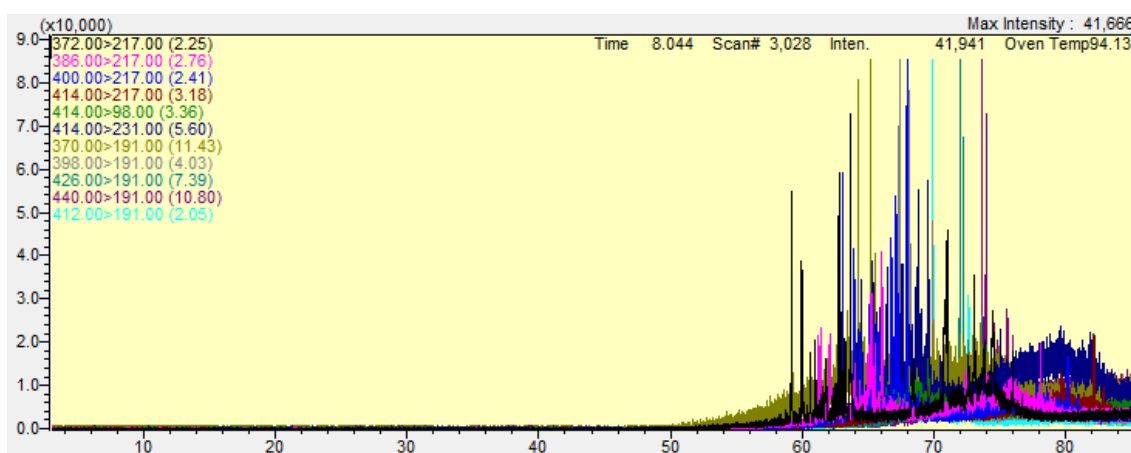


Figura 18. Cromatograma representando o monitoramento de diversas transições de m/z obtido por CG/EM pelo modo MRM.

Como exemplo representativo, na **Figura 19** é possível verificar a expansão do cromatograma no modo MRM de aquisição no CG/EM para a transição específica de m/z 370 > 191, mostrando a identificação dos biomarcadores Ts e Tm (ver significado na **Tabela 4**). Assim, para este estudo foram identificados os biomarcadores listados na

Tabela 4, para a amostra de óleo bruto e suas alíquotas nos diferentes tempos de exposição.

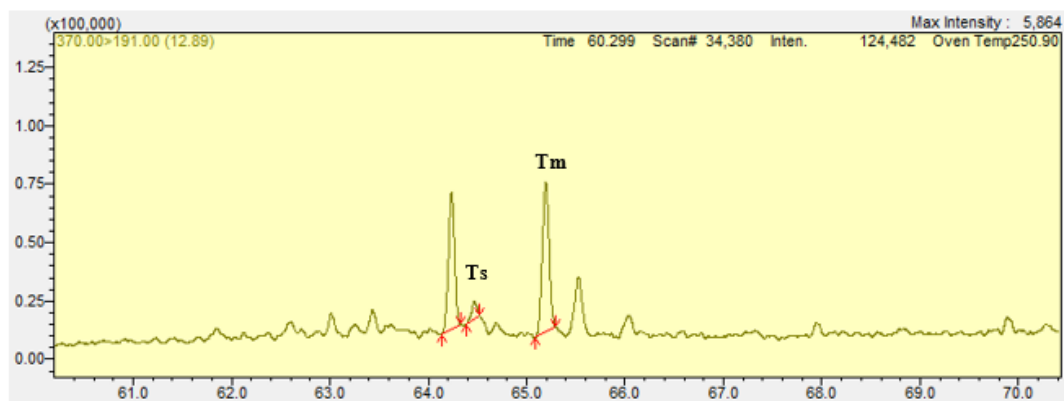


Figura 19. Cromatograma no modo MRM de aquisição no CG/EM para a transição específica de m/z 370 > 191, mostrando a identificação dos biomarcadores Ts e Tm.

Tabela 4. Identificação dos biomarcadores da classe dos terpanos e esteranos (m/z 217) das amostras de óleos brutos por CG/EM no modo MRM e suas abreviações

Abreviatura	Biomarcador
Dia S	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20S)
Dia R	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20R)
$\alpha\alpha\alpha$S	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-colestano (20S)
$\alpha\beta\beta$R	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-colestano (20R)
$\alpha\beta\beta$S	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-colestano (20S)
$\alpha\alpha\alpha$R	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-colestano (20R)
$\alpha\alpha\alpha$S	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-ergostano(20S)
$\alpha\beta\beta$R	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-ergostano (20R)
$\alpha\beta\beta$S	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-ergostano (20S)
$\alpha\alpha\alpha$R	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-ergostano (20R)
$\alpha\alpha\alpha$S	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-estigmastano (20S)
$\alpha\beta\beta$R	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-estigmastano (20R)
$\alpha\beta\beta$S	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-estigmastano (20S)
$\alpha\alpha\alpha$R	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-estigmastano (20R)
$\alpha\alpha\alpha$S	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-24-iso-propilcolestano (20S)
$\alpha\beta\beta$R	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-24-iso-propilcolestano (20R)

$\alpha\beta\beta$S	5 α (H),14 β (H), 17 β (H)-24-iso-propilcolestano (20S)
$\alpha\alpha\alpha$R	5 α (H),14 α (H), 17 α (H)-24-iso-propilcolestano (20R)
Ts	18 β (H)-22,29,30-trisnorhopano
Tm	17 α (H)-22,29,30-trisnorhopano
C29H ou C29Hop	17 α (H),21 β (H)-30-norhopano
C29Mor	17 β (H),21 α (H)-30-norhopano
Hop ou C30Hop	17 α (H),21 β (H)-hopano
Gam	Gamacerano
C30 Diahop	17 α -diahopano
C31 22S	17 α (H),21 β (H),-homohopano (22S)
C31 22R	17 α (H),21 β (H),-homohopano (22R)
C32 22S	17 α (H),21 β (H)-bishomohopano (22S)
C32 22R	17 α (H),21 β (H)-bishomohopano (22R)

A partir da integração das áreas dos picos das diversas transições de m/z referentes às classes de biomarcadores terpanos e esteranos que foram listadas na **Tabela 4**, foram calculadas diversas razões diagnósticas entre as áreas desses biomarcadores, como sumarizado na **Tabela 5**. Todas essas razões diagnósticas são classicamente utilizadas em diversos estudos de geoquímica orgânica da química do petróleo (SANTOS *et al.*, 2015; PRATA, 2016).

Tabela 5. Valores das razões diagnósticas para a classe de terpanos e esteranos em função do tempo de exposição

Razão Diagnóstica	0 horas	1 hora	3 horas	6 horas	12horas	24horas	36horas	72horas
Ts/Tm	0,84	0,81	0,82	0,81	0,82	0,81	0,82	0,82
Ts/(Ts+Tm)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Ts/Hop	0,13	0,13	0,12	0,13	0,13	0,12	0,13	0,12
C29H/C30H	0,45	0,46	0,44	0,45	0,44	0,45	0,45	0,45
C30 Diahop/Hop	0,12	0,11	0,14	0,13	0,14	0,13	0,13	0,14
C29Mor/C29Hop	0,66	0,66	0,65	0,63	0,66	0,64	0,64	0,64
Gam/Hop	0,43	0,44	0,42	0,41	0,44	0,42	0,42	0,42
C31 22S/(22S+22R)	0,58	0,58	0,57	0,57	0,58	0,58	0,57	0,56
C32 22S/(22S+22R)	0,58	0,58	0,57	0,57	0,58	0,58	0,57	0,56
Gam/Gam+C30Hop	0,30	0,30	0,30	0,29	0,30	0,30	0,30	0,30
C31R/C30Hop	0,19	0,21	0,20	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Esteranos/Hopanos	2,35	2,56	2,31	2,38	2,34	2,37	2,35	2,32
24/(24+27)	0,56	0,59	0,55	0,53	0,54	0,54	0,54	0,54
C27 Dia/St	0,51	0,51	0,51	0,49	0,50	0,50	0,50	0,49
C27 Dia/(Dia+St)	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
C27 20S/(20S+20R) Cho	0,44	0,43	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
C27 abb/(abb+aaa) Cho	0,2	0,19	0,20	0,21	0,19	0,2	0,2	0,21
C28 20S/(20S+20R) Erg	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,10
C28 abb/(abb+aaa) Erg	0,47	0,47	0,47	0,46	0,45	0,47	0,47	0,47
C29 20S/(20S+20R) Stg	0,36	0,36	0,36	0,35	0,36	0,36	0,36	0,36

C29 abb/(abb+aaa) Stg	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37	0,36	0,36	0,37
3MeC27 20S/ (20S+20R) 3MeCho	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,11	0,11	0,1
3MeC27 abb/ (abb+aaa) 3MeCho	0,47	0,47	0,47	0,46	0,45	0,47	0,47	0,47
3EtC27 20S/ (20S+20R) 3EtCho	0,36	0,36	0,36	0,35	0,36	0,36	0,36	0,36
3EtC27 abb/ (abb+aaa) 3EtCho	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37	0,36	0,36	0,37

Dentre os parâmetros calculados, estão as razões T_s/T_m e $T_s/(T_s+T_m)$, referente aos biomarcadores que indicam o grau de evolução térmica da amostra, considerando a estabilidade térmica do T_s , sendo este um indicador de origem e o T_m , indicando a maturação do óleo (SANTOS, 2013; SILVA, 2007). Prata (2016) relata que é possível sugerir que óleos com alta evolução térmica apresentem maior concentração de compostos mais estáveis, como o T_s , em contrapartida óleos com baixa evolução térmica apresenta maior concentração de compostos de menor estabilidade, como o T_m . Mediante os resultados obtidos no nosso estudo, para estas razões foi observado uma diminuição das razões diagnósticas ao longo do tempo de exposição (**Figura 20**), sugerindo que os processos foto-oxidativos provocaram diminuição das áreas de ambos os biomarcadores, conseqüentemente as razões T_s/T_m e $T_s/(T_s+T_m)$ diminuíram já na primeira hora de exposição ao sistema de foto-oxidação, dando-lhes característica de um óleo de baixa evolução térmica no decorrer do tempo de exposição, podendo assim concluir que a concentração de compostos de menor estabilidade tornaram-se predominantes no decorrer do processo.

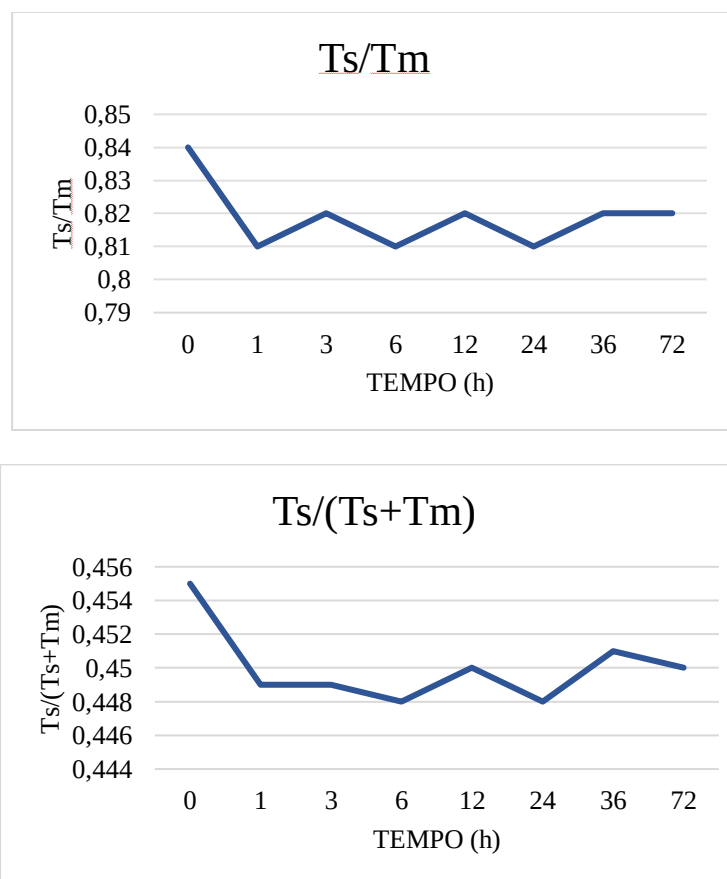


Figura 20. Representação gráfica das razões entre biomarcadores T_s e T_m para análise de evolução térmica do óleo em estudo.

Outro parâmetro de análise para a evolução térmica é a razão Ts/Hop, onde maiores valores estão relacionados ao aumento da maturidade térmica do óleo (Azevedo *et al.*, 2008), porém, nos resultados obtidos não foi observada grandes variações para esta razão, apresentando valores entre 0,12 - 0,13. O índice de Gamacerano na razão entre Gamacerano/17 α (H),21 β (H)-hopano é utilizado para distinguir óleos de ambientes salinos, hipersalinos, marinhos e não marinhos. A sua presença frequente em ambientes hipersalinos é considerado um indicador de hipersalinidade e também do grau de estratificação da coluna d'água (PRATA, 2016; SILVA, 2007). Os resultados obtidos para esta razão sugerem há ao final do processo de exposição uma diminuição da razão, pois há menor abundância do Gamacerano, como pode ser observado na **Figura 21**.

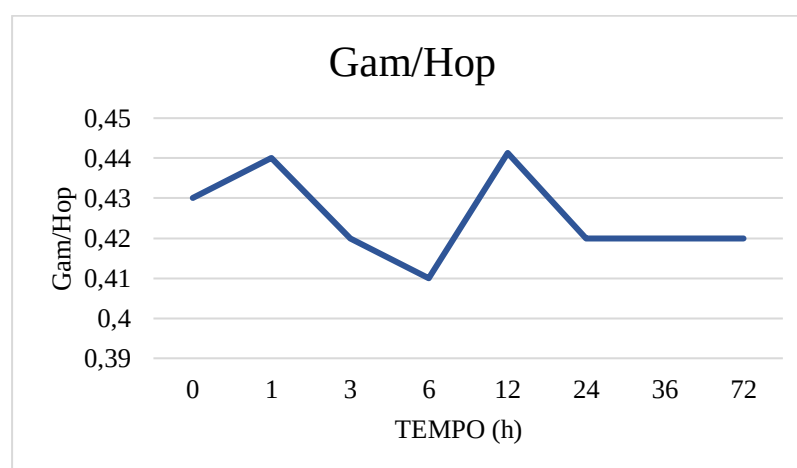


Figura 21. Representação gráfica da razão entre Gamacerano e 17 α (H),21 β (H) - hopano para análise de hipersalinidade do meio deposicional.

Para razões diagnósticas relacionadas a maturação de óleos, os parâmetros comumente utilizados são as razões entre os epímeros de configuração biológica (22R) e configuração geológica (22S) pela razão 22S/(22R+22S) nos homohopanos, que através de reações de isomerização e conversão gradual de um isômero em outro resultam numa mistura das configurações, apresentando valores entre 0-0,6, atingindo o equilíbrio entre 0,57 e 0,62 (SILVA, 2007; AZEVEDO *et al.*, 2008). Os resultados das razões foram dentro dos limites estabelecidos apresentando uma diminuição nas abundâncias relativas do par de epímeros C31 e C32 (**Tabela 5**) já nas primeiras horas de exposição do óleo bruto ao sistema de foto-oxidação, os quais podem ser verificados na **Figura 22**.

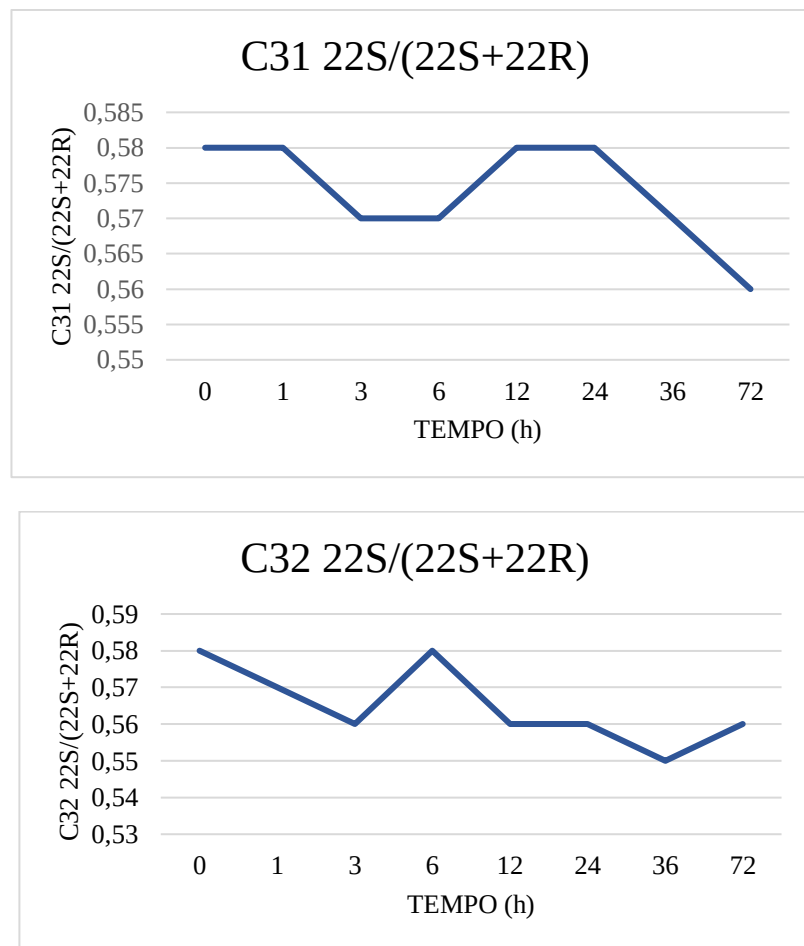
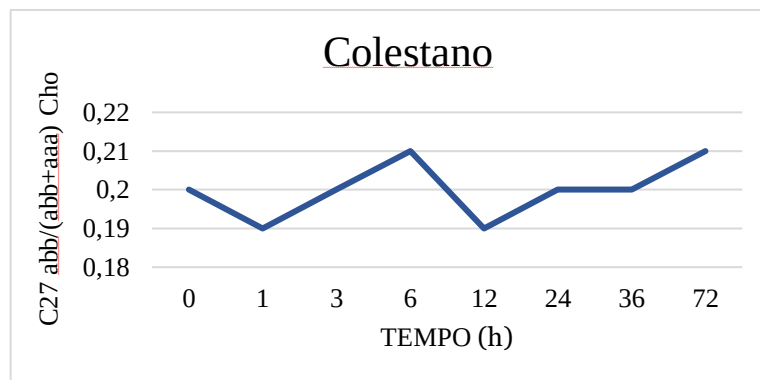
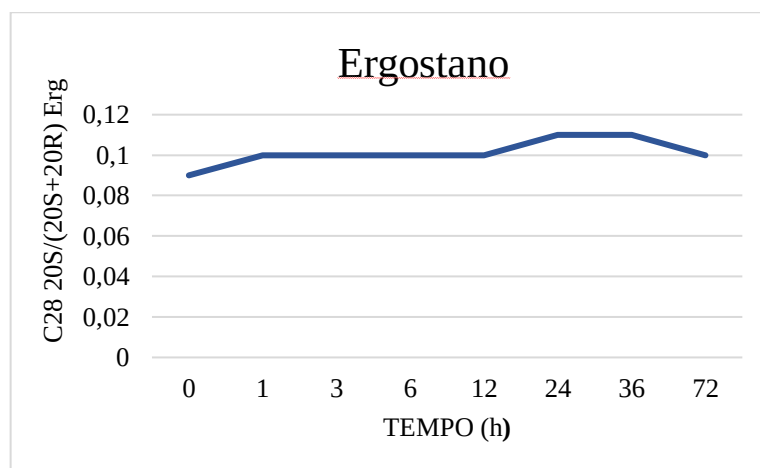


Figura 22. Representação gráfica das razões entre homohopanos para análise da maturação do óleo.

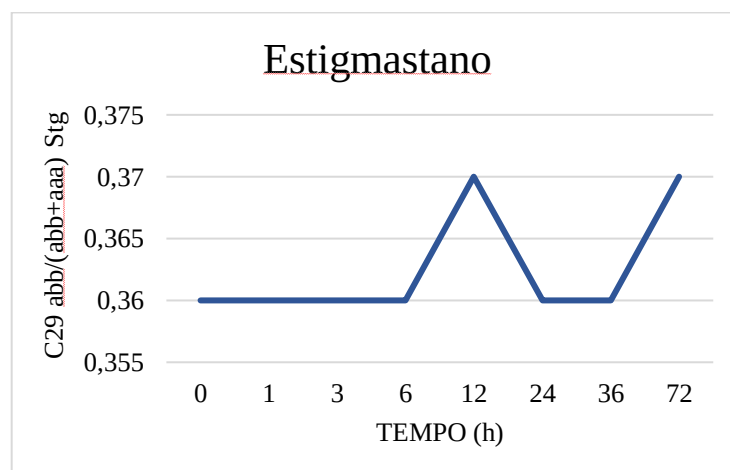
Os parâmetros para avaliação da deposição de matéria orgânica são as razões de Colestanos (C27, Cho), Ergostanos (C28, Erg) e Estigmastanos (C29, Stg) (**Tabela 5**) sendo estes os esteranos mais comuns em rochas e óleos (SANTOS, 2013; SILVA, 2007). Estudos sugerem que estes biomarcadores estão ligados a ambientes específicos e fornecem informações sobre o ambiente deposicional. Silva (2007) nos relata que a predominância dos C29 esteranos indicaria contribuição terrestre, enquanto a predominância dos C27 esteranos indicaria maior contribuição de fitoplâncton marinho. Os C28 esteranos, quando em maior proporção, poderiam indicar maior contribuição de algas lacustres. Dos resultados obtidos, foram percebidos leves aumentos em todas as razões relatadas, sendo evidenciados pelos gráficos da **Figura 23**.



(A)



(B)



(C)

Figura 23. Representação gráfica das razões entre Colestanos (C27, Cho) (A), Ergostanos (C28, Erg) (B) e Estigmastanos (C29, Stg) (C) para análise de deposição de matéria orgânica.

A razão entre Esteranos e Terpanos é outro parâmetro para identificar a deposição da matéria orgânica. Silva (2007) aponta que altas concentrações de esteranos e razões de esteranos/hopanos maior ou igual a 1 são característicos de matéria orgânica marinha com maior contribuição de plânctons e/ou algas bentônicas, do mesmo modo, altas concentrações de hopanos e baixa razão esterano/hopanos podem sugerir a entrada de matéria orgânica terrígena e/ou microbiológica. Mediante os resultados obtidos (**Figura 24**), foi percebido que a razão apresentou valores maiores que 1, porém abaixo do valor de referência (óleo bruto sem exposição – 0 hora) ao longo do processo de exposição aos sistema de foto-oxidação. Contudo, as variações dos valores da razão esterano/hopano, no geral, foram pequenas sendo, pois, um fator que pouco influencia na determinação das abundâncias relativas de esteranos e terpanos frente a um processo foto-oxidativo. Para as demais razões diagnósticas descritas na **Tabela 5**, nenhuma variação relevante foi encontrada.

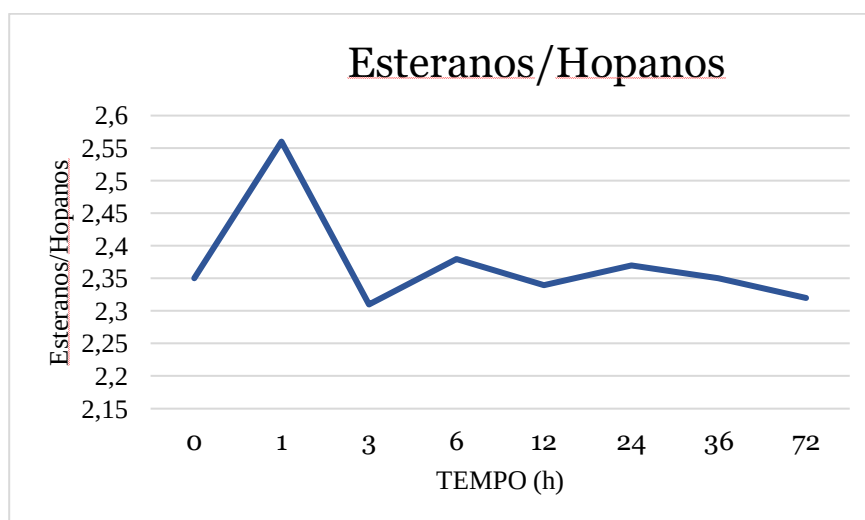


Figura 24. Representação gráfica da razão entre Esteranos e Terpanos para análise de deposição da matéria orgânica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos indicam que é possível avaliar as mudanças químicas da composição de óleos brutos através de derrames simulados em ambientes terrestres no laboratório. Os dados mostram interessantes alterações na composição química de algumas classes de biomarcadores clássicos estudados, como por exemplo, o aumento da área dos picos cromatográficos dos *n*-alcanos lineares e variações nas razões diagnósticas de isoprenóides em função do tempo de exposição do óleo ao ambiente simulado com foto-oxidação. As razões dos *n*-alcanos e isoprenóides revelaram diminuição com o tempo de exposição e diminuição/desaparecimento de *n*-alcanos de menor massa molecular.

Em relação as classes dos esteranos e terpanos, os resultados revelaram que o processo de foto-oxidação simulando um derrame de óleo em ambiente terrestre provoca alterações químicas, ao longo do tempo de exposição, em biomarcadores utilizados para o cálculo de razões diagnósticas, razões estas utilizadas na geoquímica orgânica como indicadores de maturação do óleo, evolução térmica e ambiente deposicional da matéria orgânica. Dado isso, este estudo forneceu dados abrangentes quanto às alterações químicas que óleos brutos podem sofrer em derrames simulados atrelados a processos de foto-oxidação, podendo auxiliar trabalhos futuros que visem a avaliação de processos de remediação de ambientes terrestres que sofreram contaminação em decorrência de derrames reais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AQUINO, F. N. P. M.; COSTA L. F. L. G. Riscos Ambientais em Uma Sonda De Perfuração de Petróleo Onshore na Unidade De Negócios Rn/Ce Mossoró/Rn. **HOLOS**, Ano 27, Vol 3.
2. AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. Rio de Janeiro: Interciência, 2003.
3. ARAUJO, Flavia Cristina de. **Caracterização geoquímica de óleos das bacias Camamu-Almada e Jequitinhonha**. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Civil) UFRJ, Bahia, 2007.
4. AZEVEDO, D. de A.; SILVA, T. F.; SILVA, D. B. Avaliação geoquímica de biomarcadores ocluídos em estruturas asphaltênicas. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1770-1776, 2009.
5. FARIAS, Cássia de Oliveira. **Avaliação da degradação de óleo em sedimentos de manguezal: Estudo de caso, Baía de Guanabara**. Rio de Janeiro, PUC-Rio, 2006.
6. GARRET *et al.*, Photooxidation of Crude Oils. **Environmental Science & Technology**. Vol. 32, no. 23, 1998.
7. PETERS, K. E., WALTERS, C. C., MOLDOWAN, J. M., **The biomarker guide: Biomarkers and isotopes in the environment and human history**. 2. ed., Cambridge University Press, v. 1, 2005.
8. PETERS, K. E.; MOLDOWAN, J. M. **The biomarker guide: A interpreting molecular fossil in petroleum and ancient sediments**. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, EUA, p. 363, 1993.
9. RADOVIC *et al.*, Assessment of photochemical processes in marine oil spill fingerprinting. **Marine Pollution Bulletin**, 2014. Vol. 79. 268–277.
10. REGATO, S. B. **Caracterização Geoquímica de Óleos selecionados da Bacia Sergipe – Alagoas**. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Civil) UFRJ, 2008.
11. RODRIGUES, Tânia Thibes. **Os efeitos do solo contaminado com petróleo na estrutura anatômica e estado nutricional do lenho jovem de *Campomanesia Xanthocarpa* Berg (MYRTACEAE) E**

- Sebastiania Commersoniana (Baillon) Smith & Downs (EUPHORBIACEAE)***,
Tese (Tese em Ciências Florestais), UFPR, Curitiba, 2005.
12. SANTOS, J. M. ***Estudo Avançado para caracterização química de Petróleo do Campo de Carmópolis*** – Dissertação (Mestrado em Química) UFS, Sergipe, 2013.
 13. SANTOS, Jandyson M., *et al.*, Chemical Aspects of Onshore Crude Oils from the Carmópolis Field, Sergipe-Alagoas Basin, Brazil: A Case Study on the Industrial Process for Water–Oil Separation. ***Energy&Fuels*** 2015, 29, 1315–1322.
 14. SANTOS, J.M. *et al.*, Advanced Aspects of Crude Oils Correlating Data of Classical Biomarkers and Mass Spectrometry Petroleomics. ***Energy Fuels*** 2017, 31, 1208–1217.
 15. SILVA, C. G. A. ***Caracterização geoquímica orgânica das rochas geradoras de petróleo das formações irati e ponta grossa da bacia do paraná***. Dissertação (Mestrado em Química) Porto Alegre, 2007.
 16. SILVA, Jobson Albuquerque da. ***Desenvolvimento de um sistema para simulação de derrames de petróleo visando estudos temporais de biomarcadores geoquímicos***. PE- UFRPE, 2019.
 17. SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER F.J.; CROUCH, S.R. ***Fundamentos de Química Analítica***, Tradução da 8a. ed. Norte-America. São Paulo: Thomson Learning, 2006.
 18. SPEIGHT, J. G. ***The chemistry and technology of petroleum***. 4 ed. USA: CRC Press, 955 p., 2006.
 19. PAVIA, D.L. *et al.*, Introduction to spectroscopy. 4th Edition. Beolmont: Books Cole, 2008.
 20. PLATA *et al.*, Photochemical Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oil Films. ***Environmental Science & Technology*** . Vol. 42, No. 7, 2008
 21. PRATA, P. S. ***Caracterização geoquímica de petróleo por cromatografia bidimensional abrangente e análise multivariada de dados***. Tese (Doutorado em Ciências) Campinas São Paulo, Unicamp, 2016.

22. THOMINETTE, J. F.; VERDU, Photo-Oxidative Behaviour Of Crude Oils Relative To Sea Pollution: Part I. Comparative study of various crude oils and model systems *Marine Chemistry* 1984, 15, 91-104.