



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CENTRO DE CIÊNCIAS MATEMÁTICAS E DA NATUREZA

INSTITUTO DE QUÍMICA

FLAVIA RODRIGUES ALVARES

GEOQUÍMICA FORENSE MOLECULAR: ESPECIAÇÃO DE ÓLEOS
BRASILEIROS NO SETOR PETROLÍFERO E EM CRIMES AMBIENTAIS

Rio de Janeiro

2022

Flavia Rodrigues Alvares

**GEOQUÍMICA FORENSE MOLECULAR: ESPECIAÇÃO DE ÓLEOS
BRASILEIROS NO SETOR PETROLÍFERO E EM CRIMES AMBIENTAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de bacharel em Químico com Atribuições Tecnológicas.

Orientadora: Dr^a. Gabriela Vanini Costa

Rio de Janeiro

2022

CIP - Catalogação na Publicação

A473g Alvares, Flavia Rodrigues
 Geoquímica Forense Molecular: Especificação de óleos
brasileiros no setor petrolífero e em crimes
ambientais / Flavia Rodrigues Alvares. -- Rio de
Janeiro, 2022.
 82 f.

 Orientador: Gabriela Vanini Costa.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Química, Bacharel em Química, 2022.

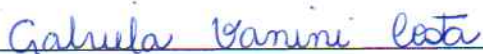
 1. Biomarcadores. 2. Geoquímica Forense. 3.
Petróleo. 4. GCxGC-TOFMS. 5. Orbitrap-HRMS. I. Costa,
Gabriela Vanini, orient. II. Título.

Flavia Rodrigues Alvares

Geoquímica Forense Molecular: Especificação de óleos brasileiros no setor petrolífero e em crimes ambientais

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de bacharel em Químico com Atribuições Tecnológicas.

Aprovada por:



Prof^a/Dr^a. Gabriela Vanini Costa (IQ/UFRJ)



Prof^a. Dr^a. Fernanda Veronesi Marinho Pontes (IQ/UFRJ)



Dr^a. Gleicielle Tozzi Wurzler (UFRJ)

Rio de Janeiro

2022

Esse trabalho é dedicado ao meu avô, Carlos Ernesto (*in memoriam*), que adoraria saber cada etapa e, mesmo sem formação na área, ficaria entusiasmado em fazer pesquisas para me ajudar.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Valéria Pitanga, por todo o apoio, amor, colo, cuidado e dedicação ao longo dessa jornada. Ao meu padrasto, Charles Ramos, por, junto da minha mãe, ter me apoiado, dado amor e cuidado.

Ao meu pai, Magno Magalhães, pelo amor, confiança e por nunca ter deixado faltar nada.

À minha irmã, Fernanda Rodrigues, por ser a melhor amiga que eu poderia ter, pelo companheirismo e por me entender.

Aos meus avós maternos, Leonor Pitanga, que não precisa de memória para lembrar o amor que existe no coração, e Carlos Ernesto (*in memoriam*), que sempre se orgulhou de sua “netinha de óculos”, por todo o cuidado com a família, a bondade e a honestidade que me ensinaram. À minha vó paterna, Nilcea Magalhães, que com sua fé e bondade, sempre rezou para que minha vida fosse iluminada.

Ao meu amor, Gabriel Maia, que foi meu suporte ao longo desses anos, não me deixou desistir e, com seu amor e cuidado, faz com que eu saiba que nunca estarei sozinha.

Às minhas amigas-irmãs, Mariana Alves, Julia Branda, Elizabeth Lopes, Ana Luísa Valle e Larissa Chaves, por me manterem forte e acreditando que sou capaz.

À minha orientadora, Gabriela Vanini Costa, pelos ensinamentos, suporte, paciência, bondade e carinho, que me aceitou em seu laboratório em tempos de pandemia, me permitindo fazer parte desse projeto que tenho tanto orgulho.

Às equipes do NAF e LAGOA, onde encontrei pessoas incríveis e que me deram todo o suporte necessário.

Às amigadas que fiz no Instituto de Química, todos foram fundamentais ao longo dessa jornada para que pudéssemos nos apoiar e acreditarmos em nossa capacidade.

Ao Centro Acadêmico do Instituto de Química, meu querido CAIQ, que me fez ter o sentimento de pertencimento, me ensinou a ter voz e lutar.

Ao Programa de Petróleo, Gás e Biocombustíveis (PRH – 20.1), Finep e ANP pela formação complementar e suporte financeiro. Ao IBAMA pelo acordo de colaboração.

À Prof^a. Fernanda Veronesi e à Dr^a. Gleicielle Wurzler por aceitarem o convite para participar da minha banca avaliadora e contribuírem para a melhoria desse trabalho. Além disso, agradeço o suporte de ambas em meus últimos períodos da graduação.

Aos professores, técnicos e funcionários do Instituto de Química, agradeço pelos ensinamentos e por me permitirem fazer ciência.

A Deus, por iluminar meu caminho e acalmar meu coração.

RESUMO

ALVARES, Flavia Rodrigues. **Geoquímica Forense Molecular: Especificação de óleos brasileiros no setor petrolífero e em crimes ambientais**. Rio de Janeiro, 2022. TCC (Graduação em Química com Atribuições Tecnológicas) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

O petróleo pode ser definido como uma mistura complexa de milhares de componentes, entre eles os biomarcadores, que são moléculas-alvo importantes para a caracterização e identificação de amostras em geoquímica forense. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi realizar a avaliação molecular de seis amostras de óleos de diferentes valores de °API (18,4 - 45,6) e uma amostra do nordeste brasileiro fornecida pelo IBAMA usando as técnicas de cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massa por tempo de voo (GC×GC-TOFMS) e espectrometria de massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS) para investigação de biomarcadores geoquímicos. O petróleo bruto foi analisado por ESI(±)-Orbitrap-HRMS para identificação de compostos polares (NOS), e as amostras fracionadas foram analisadas por GC×GC-TOFMS para identificação das moléculas apolares. O fracionamento por cromatografia líquida do petróleo bruto gerou frações de saturados, aromáticos e polares. Pela técnica GC×GC-TOFMS, as razões m/z 191 e 183 permitiram a detecção de cerca de 30 biomarcadores por amostra, como hopanos, terpanos tricíclicos, gamacerano, pristano e fitano. Foi possível calcular os parâmetros geoquímicos, como C17/C18, C17/Pr e C18/Fi, gerando informações sobre o grau de biodegradação dos óleos. Nas análises por ESI(±)-HRMS, as classes químicas mais abundantes foram os [N] no modo positivo e [O₂] no modo negativo. No tratamento estatístico foi utilizada a Análise de Componentes Principais (PCA) no qual foi observada uma tendência relacionando a amostra fornecida pelo IBAMA envolvida em derramamento ambiental como um petróleo pesado. Portanto, as técnicas analíticas avançadas utilizadas de forma complementar permitiram a especificação de óleos brasileiros, sendo um método com potencial aplicação em amostras de ampla faixa de °API, auxiliando em casos de derramamento de petróleo através de estudos geoquímicos.

Palavras-chave: Biomarcadores, Geoquímica Forense, Petróleo, GC×GC-TOFMS, Orbitrap-HRMS

ABSTRACT

ALVARES, Flavia Rodrigues. **Geoquímica Forense Molecular: Especificação de óleos brasileiros no setor petrolífero e em crimes ambientais**. Rio de Janeiro, 2022. TCC (Graduação em Química com Atribuições Tecnológicas) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Petroleum can be defined as a complex mixture of thousands of components, including biomarkers, which are important target molecules for the characterization and identification of samples in forensic geochemistry. Therefore, the objective of this study was to carry out the molecular evaluation of six oil samples with different °API values (18.4 - 45.6) and a sample from northeastern Brazil provided by IBAMA using the techniques of coupled comprehensive two-dimensional gas chromatography to time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOFMS) and high-resolution mass spectrometry (Orbitrap-HRMS) for the investigation of geochemical biomarkers. Crude oil was analyzed by ESI(±)-Orbitrap-HRMS to identify polar compounds (NOS), and fractionated samples were analyzed by GC×GC-TOFMS to identify nonpolar molecules. The liquid chromatography fractionation of crude oil generated saturated, aromatic and polar fractions. Using the GC×GC-TOFMS technique, the *m/z* ratios 191 and 183 allowed the detection of about 30 biomarkers per sample, such as hopanes, tricyclic terpanes, gammacerane, pristane and phytane. It was possible to calculate the geochemical parameters, such as C17/C18, C17/Pr and C18/Fi, generating information on the degree of biodegradation of the oils. In the analysis by ESI(±)-HRMS, the most abundant chemical classes were [N] in the positive mode and [O2] in the negative mode. In the statistical treatment, Principal Component Analysis (PCA) was used, in which a trend was observed relating the sample provided by IBAMA involved in an environmental spill as a heavy oil. Therefore, the advanced analytical techniques used in a complementary way allowed the speciation of Brazilian oils, being a method with potential application in samples with a wide °API range, helping in cases of oil spills through geochemical studies.

Keywords: Biomarkers, Forensic Geochemistry, Oil, GC×GC-TOFMS, Orbitrap-HRMS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico com composição elementar média do petróleo. Adaptado de SPEIGHT (2001)	18
Figura 2. Moléculas presentes no petróleo bruto e suas respectivas classificações químicas. Adaptado de NEAMAH (2014)	19
Figura 3. Linha do tempo (1967 – 2010) com acidentes ocorridos em navios petroleiros e plataformas de produção <i>offshore</i> no mundo que levaram ao derramamento de petróleo no mar.....	27
Figura 4. Linha do tempo (1960 – 2019) com acidentes ocorridos em navios petroleiros e oleodutos no Brasil que levaram ao derramamento de petróleo no mar	29
Figura 5. Mapa com as localidades oleadas no litoral brasileiro identificadas a partir de 30 de agosto de 2019. IBAMA (2019)	30
Figura 6. Esquema representativo de um sistema GC×GC composto por um modulador criogênico de quatro jatos e duplo estágio. Adaptado de COUTINHO (2017)	32
Figura 7. Formação e visualização de um cromatograma bidimensional. Adaptado de DALLUGE <i>et al.</i> (2003)	33
Figura 8. Esquema representativo da espectrometria de massas. Adaptado de SCHMIDT (2015) e VANINI (2018)	34
Figura 9. Ilustrações da parte interna do espectrômetro de massas do tipo Q Exactive Plus e do analisador Orbitrap. Adaptado do manual Quanfirmation Plus – ThermoFischer Scientific e SCHIMT (2015)	35
Figura 10. Gráfico representando um conjunto de dados em duas dimensões (λ_1 , λ_2), utilizando os eixos das componentes principais (PC_1 , PC_2). Adaptado de FERREIRA <i>et al.</i> (1999)	37
Figura 11. Esquema experimental das análises realizadas para a caracterização de amostras de petróleo	47

Figura 12. Cromatograma de íons extraídos (CIE) com m/z 66, 192, 212, 223, permitindo observar a posição dos padrões internos deuterados no plano cromatográfico, obtido por GC×GC-TOFMS	50
Figura 13. Cromatograma de íons totais (CIT) das amostras de petróleo bruto obtido por GC×GC-TOFMS	52
Figura 14. Cromatogramas de íons extraídos m/z 183 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC×GC-TOFMS, sendo Heptadecano (C17), Octadecano (C18), Pristano (Pr) e Fitano (Fi)	54
Figura 15. Espectros de massas das moléculas de Heptadecano (C17), Octadecano (C18), Pristano (Pr) e Fitano (Fi), sendo $[M^+]$ o íon molecular	55
Figura 16. Cromatogramas de íons extraídos m/z 191 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC×GC-TOFMS, e seus respectivos biomarcadores identificados	56
Figura 17. Espectros de massas das moléculas 18 α (H)-22,29,30-trisnor-neohopano (Ts), 17 α (H)-22,29,30-trisnor-hopano (Tm), 17 α (H),21 β (H)-hopanos (Hn) e 17-nor-terpanos tricíclicos, sendo $[M^+]$ o íon molecular	57
Figura 18. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de C17, C18, Pr e Fi encontrados nas amostras de petróleo	60
Figura 19. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$), de 17-nor-terpanos tricíclicos encontrados nas amostras de petróleo	61
Figura 20. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de 17 α (H),21 β (H)-hopanos encontrados nas amostras de petróleo	62
Figura 21. Resumo da relação de parâmetros geoquímicos selecionados	63
Figura 22. Espectros de massas de amostras de petróleo bruto obtidos por ESI(\pm)Orbitrap-HRMS	66
Figura 23. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(+)-Orbitrap-HRMS	68
Figura 24. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(-)-Orbitrap-HRMS	69

Figura 25. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias nitrogenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS	70
Figura 26. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias oxigenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(-)-Orbitrap-HRMS	71
Figura 27. Gráfico de PC <i>versus</i> a proporção da variação para PC ₁ , PC ₂ e PC ₃ dos parâmetros de biodegradação das amostras de petróleo	72
Figura 28. Gráfico relacionando os parâmetros geoquímicos de biodegradação C17/C18, C17/Pr e C18/Fi para todas as amostras de petróleo	73

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Principais biomarcadores estudados em geoquímica forense, estruturas químicas e informações (Adaptado de SILVA, 2007)23
- Quadro 2.** Relação de parâmetros geoquímicos utilizados para obter informações sobre a origem, maturidade térmica e biodegradação do petróleo.....25
- Quadro 3.** Parâmetros cromatográficos para análise da fração de hidrocarbonetos saturados cíclicos e ramificados do petróleo por GC×GC-TOFMS45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Especificações de °API e massa pesada (mg) para o fracionamento por cromatografia líquida das amostras de petróleo bruto	40
Tabela 2. Padrões internos deuterados utilizados na análise por GC×GC-TOFMS, seus íons característicos (<i>m/z</i>) e as concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) das soluções de cada padrão	41
Tabela 3. Massa de amostra utilizada para o fracionamento, porcentagens de cada fração e recuperação de amostra ao final da cromatografia líquida	48
Tabela 4. Massa das frações de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados após o aduto de ureia e as relações com as massas da fração de saturados e da amostra total	49
Tabela 5. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) obtidas dos biomarcadores identificados nas frações (HCR) das amostras de petróleo analisadas por GC×GC-TOFMS	58
Tabela 6. Parâmetros geoquímicos calculados para cada amostra de petróleo	63
Tabela 7. Número de substâncias detectadas nas amostras de petróleo bruto pela técnica de ESI(±)-Orbitrap-HRMS utilizando o programa XCalibur	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP — Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

API — *American Petroleum Institute*

ARO — Hidrocarbonetos aromáticos

ASTM — *American Society for Testing and Materials*

CIE — Cromatograma de íons extraídos

CIT — Cromatograma de íons totais

CNP — Conselho Nacional do Petróleo

1D — primeira dimensão

2D — segunda dimensão

DBE — Equivalente de ligações duplas (do inglês *double bond equivalent*)

EPIs — Equipamentos de proteção individual

ESI — Ionização por *electrospray* ou eletroneblização (do inglês *electrospray ionization*)

ESI(±)-Orbitrap-HRMS — Espectrometria de massas com analisador do tipo Orbitrap com ionização por *electrospray* no modo positivo/negativo

FA — Fração de hidrocarbonetos aromáticos

FP — Fração de substâncias polares

FS — Fração de hidrocarbonetos saturados

FT ICR-MS - Espectrômetro de massas de ressonância ciclôtrica de íons com transformada de Fourier (FT ICR-MS, do inglês *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*)

GC×GC — Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (do inglês *comprehensive two-dimensional gas chromatography*)

GC×GC-TOFMS — Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à detecção pela espectrometria de massas por tempo de voo (do inglês *comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry*)

HCR — Hidrocarbonetos de cadeias cíclicas e ramificadas

IBAMA — Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

LIN — Hidrocarbonetos de cadeia linear

NIST — *National Institute of Standards & Technology*

PC — Componentes principais (do inglês *Principal Components*)

PCA — Análise de Componentes Principais (do inglês *Principal Component Analysis*)

POL — Substâncias polares

SAT — Hidrocarbonetos saturados

TOFMS — Espectrometria de Massa por tempo de voo (do inglês *time-of-flight mass spectrometry*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Petróleo	18
1.2 Geoquímica Forense e os biomarcadores no petróleo.....	21
1.2.1 Parâmetros Geoquímicos	24
1.2.2 Acidentes e impactos ambientais	26
1.3 A caracterização geoquímica do petróleo	31
1.3.1 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS)	31
1.3.2 Espectrometria de Massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS)	33
1.4 Análise Quimiométrica	36
2 OBJETIVOS	38
2.1 Objetivo geral	38
2.2 Objetivos específicos	38
3 EXPERIMENTAL	40
3.1 Amostras	40
3.2 Material	40
3.3 Padrões	41
3.4 Preparo de amostras	42
3.4.1 Fracionamento em cromatografia líquida	42
3.4.2 Isolamento das frações de hidrocarbonetos cíclicos/ramificados (HCR) de frações de hidrocarbonetos saturados (SAT) por aduto de ureia	43
3.4.3 Preparo das frações de HCR para análises cromatográficas e do óleo bruto por espectrometria de massas	43
3.5 Instrumentação analítica	44
3.5.1 GC×GC-TOFMS	44
3.5.2 Orbitrap-HRMS	45
3.5.3 Análise Quimiométrica	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1 Distribuição das classes químicas por cromatografia líquida	48
4.2 Análise qualitativa por GC×GC-TOFMS	50
4.3 Análise semiquantitativa por GC×GC-TOFMS	58
4.4 Avaliação dos parâmetros geoquímicos por GC×GC-TOFMS	62

4.5 Estudo dos compostos polares e perfil químico por ESI-Orbitrap-HRMS	64
4.6 Estudos quimiométricos dos dados obtidos por GC×GC-TOFMS	71
5 CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS	75
APÊNDICE A: TABELAS E FIGURAS.....	80
APÊNDICE B: PRODUÇÕES CIENTÍFICAS	82

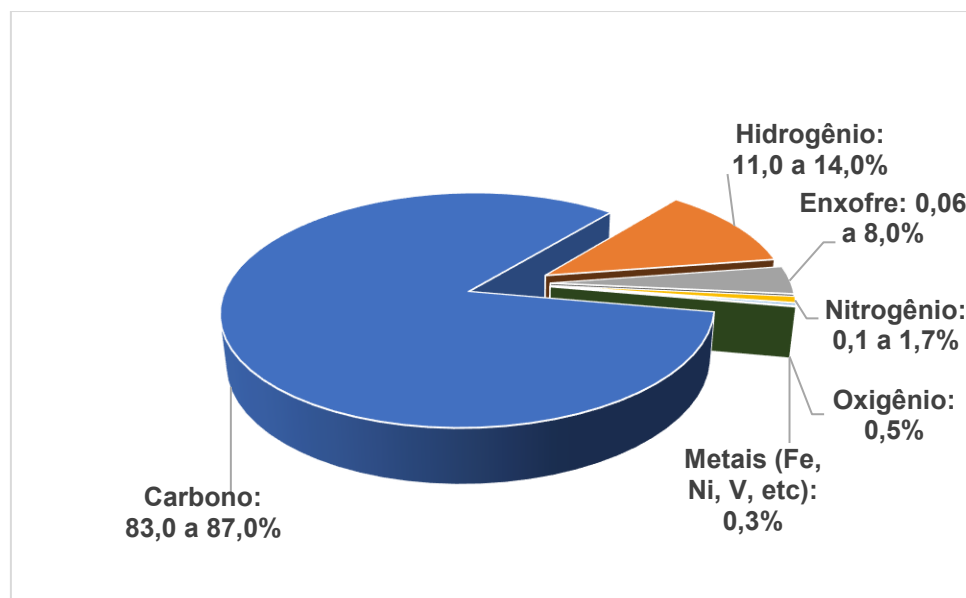
1 INTRODUÇÃO

1.1 Petróleo

O petróleo hoje se encontra na posição de principal matriz energética mundial, sendo seus derivados utilizados como combustíveis e matéria-prima para a produção de plásticos, fertilizantes, tintas, fibras sintéticas e outras inúmeras aplicações. A origem da palavra petróleo vem do latim *petra* (pedra) e *oleum* (óleo), devido à forma como ele é encontrado na natureza (SPEIGHT, 2006).

Composto por milhares de substâncias e definido pela *American Society for Testing and Materials* (ASTM) como “uma mistura de hidrocarbonetos, de ocorrência natural, geralmente no estado líquido, contendo ainda compostos de enxofre, nitrogênio, oxigênio, metais e outros elementos”, o petróleo se originou há milhões de anos (ASTM, 2011). Em sua composição, o elemento mais abundante é o carbono, como mostrado na **Figura 1**.

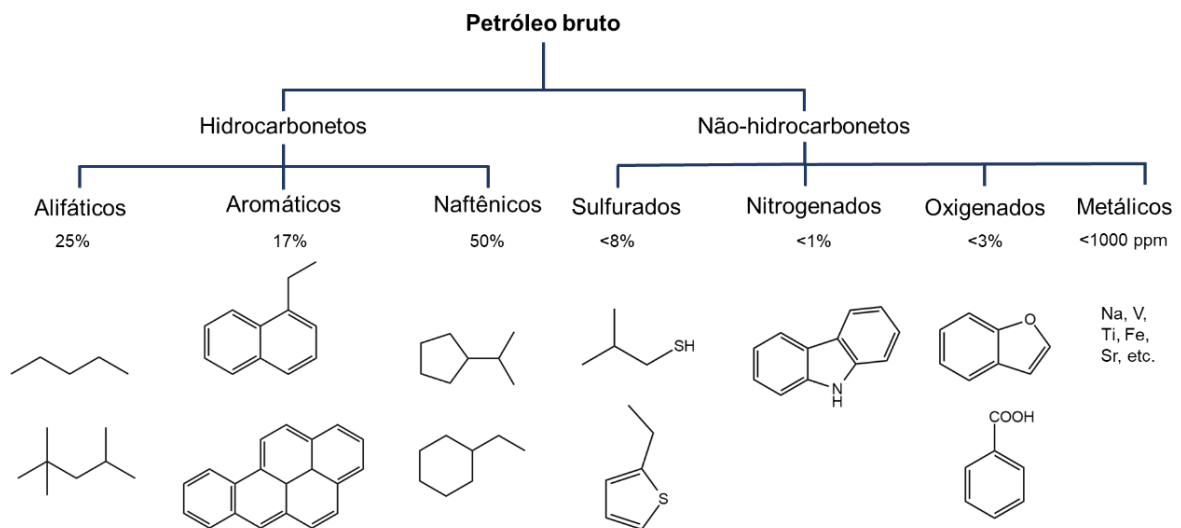
Figura 1. Gráfico com composição elementar média do petróleo (Adaptado de SPEIGHT, 2001).



Os hidrocarbonetos presentes no petróleo são compostos por cadeias lineares, ramificadas, cíclicas e aromáticas, podendo conter insaturações. Além disso, há moléculas contendo heteroátomos (nitrogênio - N; enxofre - S; oxigênio - O) em sua

estrutura (**Figura 2**). Sua ocorrência em diversos estados físicos influencia na aplicabilidade da substância encontrada, visto que os hidrocarbonetos em estado líquido formam o óleo bruto, no gasoso compõem o gás natural e em estado sólido são usados pela indústria petrolífera como asfalto natural (HEDBERG, 1964).

Figura 2. Moléculas presentes no petróleo bruto e suas respectivas classificações químicas (Adaptado de NEAMAH, 2014).



A formação do petróleo se deu a partir de uma longa trajetória de decomposição da matéria orgânica, principalmente algas e microrganismos, até a obtenção do óleo cru. Na etapa de diagênese, há a formação de querogênio, constituinte orgânico de rochas sedimentares que é insolúvel, que passa por degradação térmica e atividade microbiana, resultando na formação de gás metano de origem biogênica. As etapas seguintes são a catagênese e a metagênese, nas quais há o aumento de temperatura pelo calor gerado no interior da Terra e o craqueamento da fração pesada em hidrocarbonetos mais leves, formando óleo líquido e gás metano (TISSOT e WELTE, 1984; THOMAS, 2001).

As transformações da matéria orgânica em petróleo ocorrem em rochas sedimentares, chamadas rochas geradoras. Após, o óleo e gás produzidos ocupam um grande volume, aumentando a pressão na rocha que foram gerados e rompendo-a, fazendo com que essa mistura migre até um local poroso e selado, as rochas reservatório. Os reservatórios são impermeabilizados por rochas selantes, permitindo que o fluido fique aprisionado na rocha reservatório (MILANI *et al.*, 2000).

Os reservatórios de petróleo estão distribuídos mundialmente de forma não-uniforme, sendo o Oriente Médio o detentor da maior fração das reservas e principal produtor (MILANI *et al.*, 2000). A exploração de petróleo teve seu início em 1859, quando o empresário Edwin Drake descobriu na Pensilvânia, nos Estados Unidos, o primeiro poço de petróleo promissor a exploração, sendo um marco na indústria petrolífera do século XIX. Nessa mesma época, foi descoberto que um derivado do petróleo, o querosene, poderia ser utilizado para iluminação, em detrimento dos materiais antes usados, o óleo de baleia e o gás de carvão. Com a criação e avanço do uso de automóveis, aviões e outros veículos que utilizavam derivados de petróleo como combustíveis alavancou ainda mais a indústria, gerando grandes organizações especializadas na área petrolífera (SCHIAVI e HOFFMANN, 2015).

No Brasil, as primeiras concessões relacionadas à exploração estão datadas em 1858 e 1864, fornecidas pelo imperador para a lavra de carvão, turfa, folhelhos betuminosos e pesquisas de petróleo em Ilhéus, na Bahia. Porém, o primeiro poço de petróleo descoberto em terras brasileiras foi em Lobato, na Bahia, no ano de 1939. Essa descoberta deu início a exploração dessa matriz e ao desenvolvimento da indústria do petróleo no Brasil. Em 1938, antes mesmo da descoberta do poço em Lobato, foi criado o Conselho Nacional do Petróleo (CNP), o qual tinha grande viés nacionalista e resultou na campanha “O petróleo é nosso”, em 1943 (LUCCHESI, 1998; PEYERL, 2017).

Em 1953, foi criada a Petrobras, seguindo com os princípios do CNP e ficando responsável pelo monopólio estatal de toda a cadeia produtiva e refino do petróleo, até 1997, quando houve a quebra desse monopólio e a criação da Agência Nacional de Petróleo (ANP), em 1998, para regulamentar as licitações relacionadas à exploração (LUCCHESI, 1998; PEYERL, 2017). Após diversos investimentos em pesquisas e desenvolvimento tecnológico pela Petrobras, foi encontrado o primeiro reservatório na camada de pré-sal, em 2007, no campo de Tupi, localizado na Bacia de Campos. Essa descoberta foi um marco, visto que houve um grande aumento na produção petrolífera brasileira e colocando o país entre os maiores produtores mundiais (AZEVEDO FILHO, PERESTRELO e MOLINA-PALMA, 2016). Em 2014, a produção diária de petróleo no pré-sal era de 500 mil barris, e em somente quatro anos, em 2018, a produção triplicou, atingindo 1,5 milhões de barris de petróleo produzidos por dia (PETROBRAS, 2022).

Em 2022, o mundo produz cerca de 97 milhões de barris de petróleo por dia (IEA, 2022), sendo o óleo direcionado para o refino e suas variadas aplicações. Nas refinarias, ocorrem diversas etapas como destilação, desasfaltação, craqueamento catalítico, hidrorrefino, entre outras, dependendo do derivado que será produzido. A partir desses processos, serão produzidos querosene, diesel, gasolina e petroquímicos destinados à outras indústrias (BRASIL, ARAÚJO e SOUSA, 2012).

1.2 Geoquímica Forense e os biomarcadores no petróleo

A Geoquímica orgânica é a área que estuda a formação do petróleo desde o sedimento que forma a matéria orgânica, passando pelos processos como a acumulação desses sedimentos e a migração do óleo nas rochas, até a exploração e produção (McSWEEN Jr, RICHARDSON e UHLE, 2003). É possível fazer uma ligação entre os principais elementos do petróleo, como carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e enxofre, com a matéria orgânica que o formou, permitindo uma caracterização à nível molecular.

Os conhecimentos geoquímicos do petróleo juntamente com o uso de técnicas analíticas permitem o desenvolvimento de uma metodologia científica para a identificação dos componentes presentes, como os biomarcadores, moléculas-alvo que podem ser utilizadas em estudos voltados para crimes ambientais envolvendo derramamento de petróleo e ser possível propor, por exemplo, à origem daquele material, a chamada geoquímica forense (KAPLAN *et al.*, 1997).

Os vazamentos e derramamentos de petróleo ocorridos nos mares, lagos e em terra, sendo eles causados de forma acidental, intencional e/ou até natural, devem ser remediados para evitar um grande dano ambiental a todo o ecossistema do local afetado. Para isso, é necessário construir uma análise de confiança do material com o objetivo de encontrar/indicar o responsável, que deverá realizar as remediações dos derramamentos (PHILP, 1998).


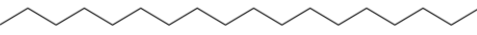
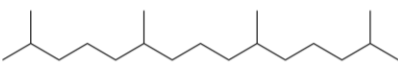
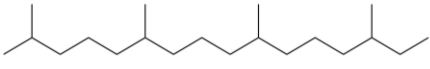
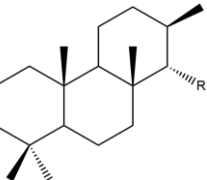
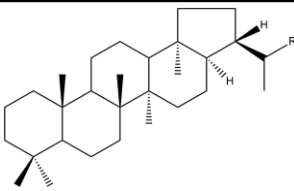
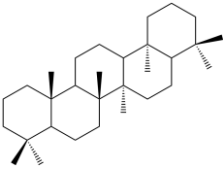
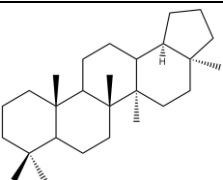
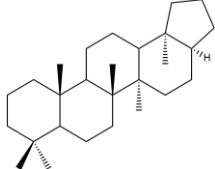
No domínio da geoquímica orgânica, biomarcadores, fósseis geoquímicos, indicadores geoquímicos, fósseis moleculares ou geolipídios são moléculas orgânicas encontradas em amostras geológicas, às quais preservaram a identidade da cadeia hidrocarbônica em relação ao precursor biológico, após a transformação da matéria orgânica ao longo de milhares de anos. Ou seja, são moléculas que agem como o *fingerprint*, a impressão digital do petróleo. Além disso, são úteis na exploração de

petróleo e gás, visto que auxiliam a orientar a exploração de óleo para áreas que possuam quantidade relevante de acumulação para a produção (ALVES *et al.*, 2018).

Em 1934, o químico Alfred Treibs relacionou porfirinas encontradas em amostras de petróleo bruto com moléculas de clorofila presentes em plantas, propondo a origem biológica dos óleos. Essa relação entre a estrutura de compostos existentes no petróleo e sua molécula precursora ligada à origem da matéria-orgânica que formou aquele óleo permite extrair características como o grau de maturidade e de biodegradação do petróleo (PHILP, 1987; TISSOT e WELTE, 1984).

Existem diversas classes de biomarcadores, estando entre as principais os esteróides, terpenóides e isoprenóides. O grupo dos *n*-alcanos acíclicos, como o heptadecano (C17) e o octadecano (C18), indica a origem da matéria-orgânica. Os isoprenóides, como pristano e fitano, carregam informações sobre a origem sedimentar dos óleos. Já os terpanos e esteranos são parâmetros importantes para indicar o grau de maturação e o nível de biodegradação das amostras de petróleo (SILVA, 2011). O **Quadro 1** contém as estruturas químicas de alguns biomarcadores e a informação que eles proporcionam no estudo geoquímico.

Quadro 1. Principais biomarcadores estudados em geoquímica forense, estruturas químicas e informações (Adaptado de SILVA, 2007).

Biomarcador	Estrutura	Precursor	Informação
Heptadecano (C17)		Algas marinhas	Origem biológica
Octadecano (C18)		Algas marinhas	Origem biológica
Pristano (Pr)		Organismos fototróficos	Ambiente deposicional
Fitano (Fi)		Organismos fototróficos	Ambiente deposicional
Terpanos Tricíclicos (Trn)		Organismos procariontes	Grau de maturação
17 α (H),21 β (H)-hopanos (Hn)		Organismos procariontes	Grau de maturação da matéria orgânica
Gamacerano (GAM)		Protozoas	Indicador de ambiente hipersalino
18 α (H),21 β (H)-22,29,30-trisnorhopano (Ts)		Organismos procariontes	Grau de maturação da matéria orgânica
17 α (H),21 β (H)-22,29,30-trisnorhopano (Tm)		Organismos procariontes	Grau de maturação da matéria orgânica

1.2.1 Parâmetros Geoquímicos

Os parâmetros geoquímicos são razões obtidas a partir das abundâncias relativas dos biomarcadores presentes no petróleo que, ao serem relacionadas, trazem informações como, por exemplo, o sedimento orgânico que formou aquele óleo, o estágio de evolução térmica e a biodegradação. Tais índices são obtidos por meio da análise de cromatogramas e espectros de massas de seus respectivos íons. O uso das razões geoquímicas permite a comparação entre diferentes amostras de petróleo, podendo relacioná-las entre si de acordo com os resultados dos parâmetros (SILVA, 2007; AZEVEDO, SILVA e SILVA, 2009).

Diferentes razões de parâmetros geoquímicos mostram diversas características do petróleo, como por exemplo, biomarcadores homólogos são interessantes para observar a origem do óleo, enquanto a razão de estereoisômeros é mais usada em parâmetros relacionados à maturidade (PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005a). Observa-se no **Quadro 2** algumas dessas relações.

Quadro 2. Relação de parâmetros geoquímicos utilizados para obter informações sobre a origem, maturidade térmica e biodegradação do petróleo.

Parâmetro Geoquímico	Parâmetro	Informação	Referência
Pr/Fi	< 1	Ambiente deposicional anóxico	PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005b.
	>1	Ambiente deposicional óxido	
Pr/C17 e Fi/C18	Pr/C17>1 e Fi/C18>1	Óleo biodegradado	ALVES <i>et al.</i> , 2018
	Pr/C17>1 e Fi/C18<1	Óleo não biodegradado	
	Pr/C17<1 e Fi/C18<1	Óleo não biodegradado	
C17/C18, C17/Pr e C18/Fi		Valores mais baixos indicam óleo biodegradado, enquanto valores altos indicam contaminações recentes	COLOMBO <i>et al.</i> , 1989
Ts/Tm	< 1	Origem em ambiente hipersalino	PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005b.
	> 1	Origem em ambiente Carbonático	
Ts/(Ts+Tm)	> 0,6	Origem de sedimento maduro	VECCHIA, 2009
	0,4 < x < 0,6	Origem de sedimento de maturidade intermediária	
	< 0,4	Origem de sedimento recente	
Ts/H30		Quanto maior a razão, maior a maturidade térmica	AZEVEDO, SILVA e SILVA, 2009.
GAM/H30		Quanto maior a razão, mais salino o ambiente deposicional	HOLBA <i>et al.</i> , 2000
H29/H30		Quanto maior a razão, maior a maturidade térmica	PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005b.

É importante salientar que para uma mesma razão geoquímica pode existir mais de uma interpretação, visto que a criação dessas relações se dá por análise das tendências das características de amostras estudadas. Por exemplo, as razões Pr/C17 e Fi/C18 estão relacionadas à biodegradação do óleo (ALVES *et al.*, 2018) e ao grau de maturidade térmica (VOLKMAN *et al.*, 1983). A razão H29/H30 indica tanto a maturidade térmica do petróleo (PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005b.), quanto gera informações relacionadas ao ambiente de origem (MELLO *et al.*, 1988).

1.2.2 Acidentes e impactos ambientais

Embora as aplicações dos derivados de petróleo beneficiem a sociedade e o atual modelo econômico, além de gerar empregos em toda a cadeia produtiva até alcançar o consumidor, o uso indiscriminado de combustíveis fósseis e petroquímicos podem gerar impactos ambientais muitas vezes irreversíveis. Derramamento de petróleo nos oceanos, poluição atmosférica causada pela queima, despejo de rejeitos industriais em lagos e rios, afetando o ecossistema local e a população que vive no entorno são somente alguns dos problemas causados pela principal matriz energética mundial.

Ao longo da história, diversos acidentes ocorridos em navios petroleiros e plataformas de produção *offshore* liberaram milhares de toneladas de óleo nos oceanos (**Figura 3**). Em 1967, o navio Torrey Canyon colidiu com uma parede de recifes na costa da Cornualha, na Inglaterra, enquanto navegava no Canal da Mancha, derramando cerca de 119.000 toneladas de petróleo do Kuwait (WELLS, 2017). Alguns anos depois, em 1978, outro grande navio, Amoco Cadiz, derramou na costa da Bretanha, na França, 223.000 toneladas de óleo cru leve da Arábia e do Irã (CONAN, DUNNET e CRISP, 1982). No ano seguinte, em 1979, houve uma explosão no poço de petróleo Ixtoc 1, no Golfo do México, fazendo com que o petróleo se espalhasse pelo oceano durante os nove meses seguintes, derramando no total 454.000 toneladas de óleo (MURAWSKI *et al.*, 2020). Dez anos após, em 1989, o navio Exxon Valdez encalhou na costa do Alasca, onde derramou cerca de 37.000 toneladas de petróleo no mar, afetando animais marinhos e pássaros, além do turismo e a pesca (MURAWSKI *et al.*, 2020). Em 1991, houve uma explosão no navio ABT Summer em alto mar, na Angola, levando ao mar 260.000 toneladas de petróleo (KUMARI, KAUR e KAUR, 2019). Já em 2010, um vazamento de óleo no fundo do mar seguido da explosão da plataforma Deepwater Horizon, no Golfo do México, levou ao derrame de 100.000 toneladas de petróleo no oceano (BEYER *et al.*, 2016).

Figura 3. Linha do tempo (1967 – 2010) com acidentes ocorridos em navios petroleiros e plataformas de produção *offshore* no mundo que levaram ao derramamento de petróleo no mar.



No Brasil, diversas ocorrências de derramamentos foram igualmente registradas, como mostrado na **Figura 4**, assim como seus impactos ambientais e sociais. O primeiro a ser conhecido foi causado pela explosão do navio Sinclair Petrolore, na Ilha de Trindade (ES), em 1960, derramando cerca de 66.000 toneladas de petróleo bruto no mar. Em 1974, houve um choque do navio Takimya Maru com uma rocha no canal de São Sebastião, no litoral paulista, gerando um derramamento

de em média 7.000 toneladas de óleo. No ano seguinte, em 1975, o navio Tarik Ibn Ziyad encalhou na Baía de Guanabara, no Rio de Janeiro, e o rompimento de seus tanques gerou um vazamento de petróleo que especialistas estimam que seja entre 7 e 18 mil toneladas. Já no final dos anos 70, houve um incêndio no navio Gunvor MAERSK, derramando 12.000 toneladas de óleo combustível no rio Amazonas. No ano 2000, o rompimento de um oleoduto da Refinaria Duque de Caxias (REDUC), no Rio de Janeiro, fez com que 1.300 toneladas de óleo combustível marítimo vazassem na Baía de Guanabara, atingindo uma grande área de praias e manguezais, afetando a vegetação, animais e a população que vivia da pesca nesses locais (SOUZA FILHO, 2006).

Figura 4. Linha do tempo (1960 – 2019) com acidentes ocorridos em navios petroleiros e oleodutos no Brasil que levaram ao derramamento de petróleo no mar.

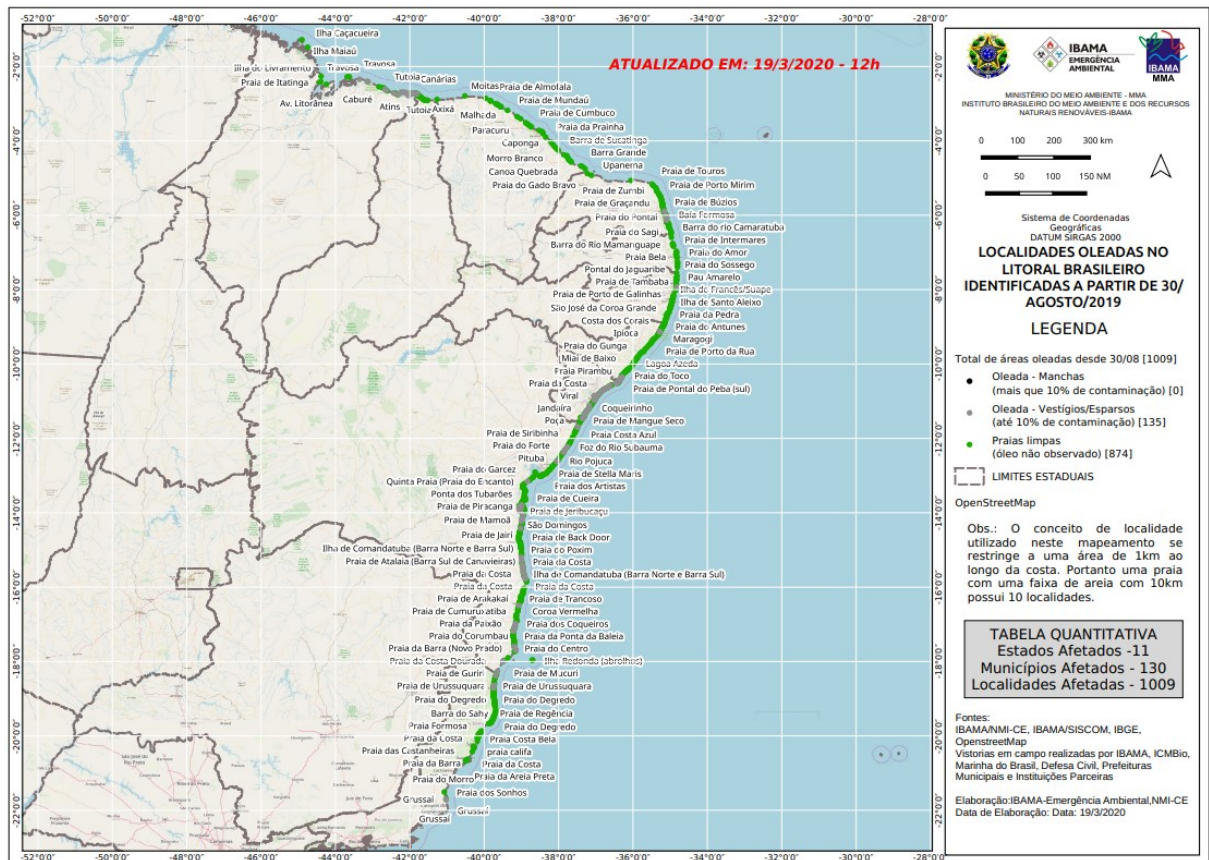


© Raul Aragão

Em agosto de 2019, um navio petroleiro causou o derramamento de mais de 5.000 toneladas de petróleo bruto no litoral do nordeste brasileiro, atingindo mais de 4 mil quilômetros de costa, chegando até a região sudeste. Ao todo foram atingidas 1009 áreas em 11 estados (VIEIRA, 2020), como visto na **Figura 5**. Esse desastre

afetou praias, animais e o ecossistema marinho, além de gerar problemas para a população que vive do turismo e se alimenta de frutos do mar pescados nos locais afetados. Como tentativa de remediar os danos, diversas entidades se envolveram para tentar reduzir o impacto do derramamento, como universidades, a Agência Nacional do Petróleo (ANP), a Marinha do Brasil, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), além de organizações não-governamentais (ONGs) (RICHETTI e MILARÉ, 2021). Moradores dos locais afetados e voluntários também estiveram presentes na limpeza de praias, porém, pela demora na orientação, a maioria não fez uso de equipamentos de proteção individual (EPIs), acarretando casos de dermatite na pele devido ao contato com compostos sulfurados e nitrogenados, e a inalação de substâncias carcinogênicas, como benzeno e tolueno (PENA *et al.*, 2020).

Figura 5. Mapa com as localidades oleadas no litoral brasileiro identificadas a partir de 30 de agosto de 2019 (Fonte: IBAMA, 2019)



As investigações para descobrir a origem do óleo, a causa do derramamento e analisar as ações para remediação de danos, geraram a criação de uma Comissão Parlamentar de Inquérito (CPI), porém ela foi encerrada no início de 2020 sem conclusões, com a justificativa da pandemia de COVID-19.

Recentemente, em dezembro de 2021, a Polícia Federal concluiu que um navio grego foi responsável pelo desastre (G1 RN, 2021). Porém, a origem do óleo ainda pode ser dita como incerta, com suposições de ser de reservas venezuelanas, porém as análises realizadas até o momento foram inconclusivas.

1.3 A caracterização geoquímica do petróleo

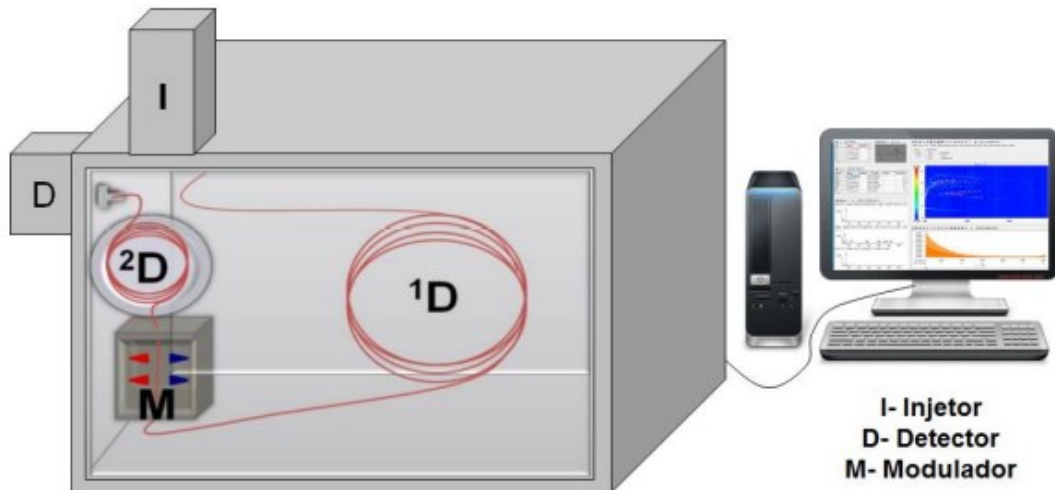
Em trabalhos recentes, os autores vêm utilizando técnicas com alto desempenho analítico, como a GC×GC-TOFMS e a espectrometria de massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS) de forma complementar, no intuito de se obter uma caracterização detalhada do petróleo (ÁVILA *et al.*, 2014; VANINI *et al.*, 2020), além de serem técnicas com grande potencial forense (WANG *et al.*, 2006; SAMPAT *et al.*, 2016). A seguir serão apresentadas as técnicas analíticas utilizadas neste trabalho.

1.3.1 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS)

O petróleo pode ser analisado por diferentes técnicas, como a cromatografia. Por ser uma matriz de alta complexidade, para obter um melhor resultado a análise de petróleo necessita de técnicas cada vez mais modernas, entre elas a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC), desenvolvida inicialmente por LIU e PHILLIPS (1991). A utilização da GC×GC é importante em casos nos quais há a separação e detecção simultaneamente de diversas substâncias similares contidas na amostra, como acontece no petróleo (LIU e PHILLIPS, 1991).

São utilizadas duas colunas posicionadas de forma sequencial no sistema do GC×GC, sendo a primeira uma coluna convencional e a segunda uma de menor diâmetro, nas quais todo o efluente que entra na primeira coluna (¹D) ou uma parte representativa dele é direcionado para a segunda coluna (²D) por meio de um modulador, sendo esse o motivo do termo abrangente, **Figura 6**. A combinação das duas colunas garante o princípio da ortogonalidade, que estrutura as classes químicas no plano cromatográfico e eleva a seletividade da técnica (von MÜHLEN *et al.*, 2006).

Figura 6. Esquema representativo de um sistema GC×GC composto por um modulador criogênico de quatro jatos e duplo estágio (Adaptado de COUTINHO, 2017).

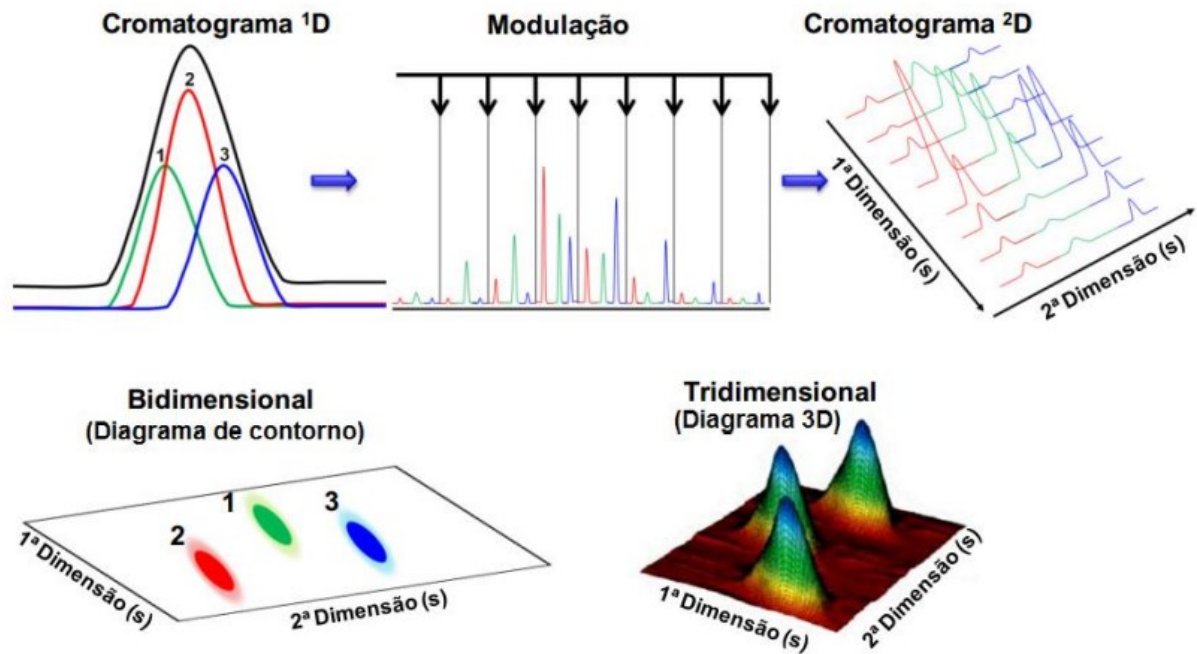


As duas colunas cromatográficas ($1^{\circ}D$ e $2^{\circ}D$) possuem seletividade distinta e são interligadas por um modulador, que segmenta e focaliza o efluente saído da primeira coluna, comprimindo as bandas cromatográficas estreitas. O efluente é direcionado para a segunda coluna, na qual ocorrerá uma separação rápida a cada ciclo, ou período de modulação, chegando em seguida ao detector (von MÜHLEN *et al.*, 2006). O acoplamento do espectrômetro de massas com analisador por tempo de voo (TOFMS), que realiza a separação dos íons com base na diferença de velocidades que as partículas levam para percorrer a trajetória entre o a fonte de ionização e o detector, permite uma melhor reconstrução dos picos e auxilia na deconvolução espectral de picos sobrepostos. A partir da deconvolução espectral, ou seja, do tratamento dos dados utilizando um *software*, é possível identificar compostos que coeluem na corrida cromatográfica tanto na primeira quanto na segunda dimensão por meio dos espectros de massas, visto que não há variações ao longo de um pico cromatográfico (ADAHCHOUR *et al.*, 2006).

O resultado da análise por GC×GC-TOFMS se dá por meio de cromatogramas, que podem ser diagramas 2D de cores, diagramas de contorno e diagramas em 3D (**Figura 7**). Para a configuração de colunas apolar/polar, pode-se observar no cromatograma que no eixo x está o tempo de retenção na primeira dimensão ($1^{\circ}D$),

com a separação baseada na volatilidade, e no eixo y o tempo de retenção da segunda dimensão (2^{D}), baseada na polaridade ou estrutura molecular.

Figura 7. Formação e visualização de um cromatograma bidimensional (Adaptado de DALLUGE *et al.*, 2003).



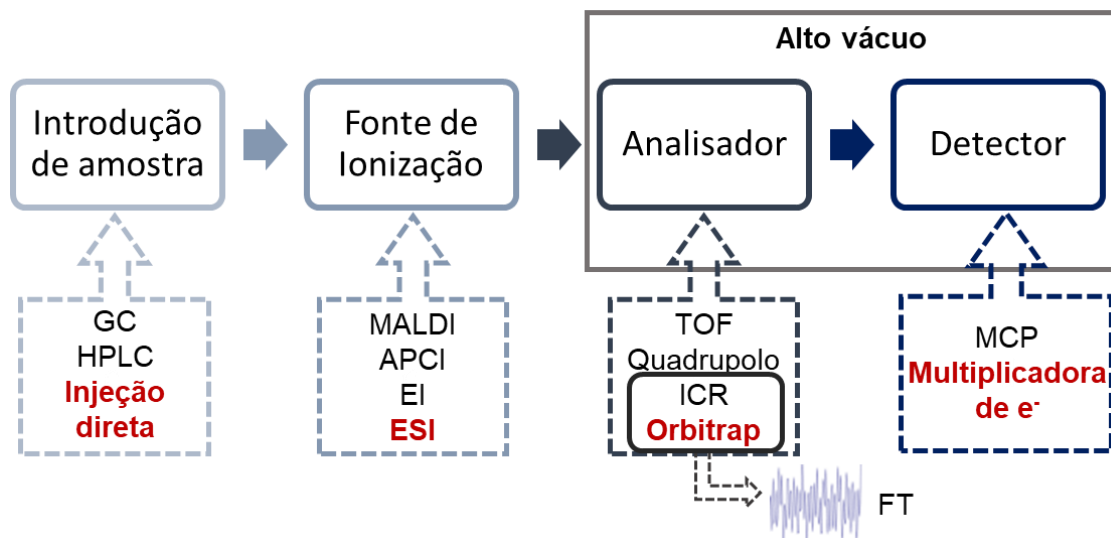
1.3.2 Espectrometria de Massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS)

A técnica analítica de espectrometria de massas ioniza átomos ou moléculas presentes em uma amostra para separá-los de acordo com suas relações massa/carga (m/z). Ao longo do tempo, os equipamentos foram desenvolvidos para aumentar o poder de resolução, a acurácia e a precisão de massa, sendo de grande importância para análises de matrizes complexas nas áreas da química, meio ambiente, alimentos e forense (VANINI, 2018).

A **Figura 8** mostra de forma esquemática o caminho percorrido pelo analito em um espectrômetro de massas, o qual possui diferentes possibilidades de formas de introdução, fontes de ionização, analisadores e detectores, escolhidos dependendo da finalidade e do tipo de amostra. Após a introdução da amostra, o material passa pela fonte de ionização, que irá ionizar as moléculas ou acumular os íons. Posteriormente, os íons passam pelo analisador de massas, que irá separá-los de

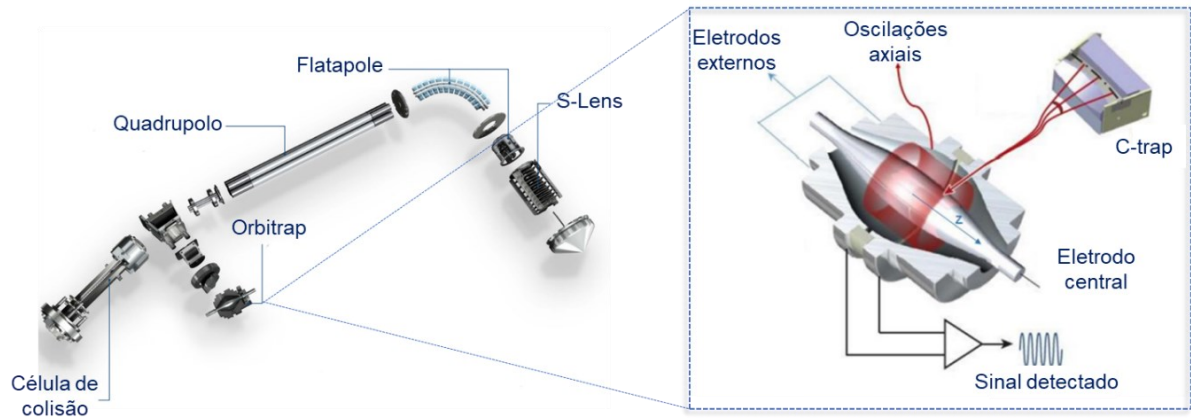
acordo com a relação m/z ou permanecer com um “pacote” de íons em seu interior; e pelo detector, que tem a função de “contar” os elétrons e transformar o sinal gerado pelo aparelho em corrente elétrica. Por último, o sinal elétrico é recebido em um processador e será convertido em função da m/z , ou a transformada de Fourier desdobra a frequência em dados que geram os espectros de massas (SCHMIDT, 2015; VANINI, 2018).

Figura 8. Esquema representativo da espectrometria de massas (Adaptado de SCHMIDT, 2015 e VANINI, 2018).



O analisador de massas de alta resolução Orbitrap-HRMS apresenta boa acurácia e de dimensões compactas quando comparado com outros equipamentos, como o espectrômetro de massas de ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier (FT ICR-MS, do inglês *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*) (MAKAROV *et al.*, 2006). Acoplado o analisador Orbitrap com fontes de ionização brandas, como a ionização por *electrospray* (ESI), é possível analisar milhares de componentes polares de matrizes complexas, como o petróleo, visto que a alta resolução permite separar picos com pequena diferença de massa (STRUPAT, SCHEIBNER e BROMIRSKI, 2016; MARTINS *et al.*, 2017).

Figura 9. Ilustrações da parte interna do espectrômetro de massas do tipo *Q Exactive Plus* e do analisador Orbitrap (Adaptado do manual *Quanfirmation Plus – ThermoFischer Scientific* e SCHIMT, 2015).



O analisador de massas Orbitrap (**Figura 9**), é composto por um eletrodo externo em forma de barril com um raio máximo R_2 e um eletrodo fusiforme central ao longo do eixo de raio R_1 . O eletrodo externo é mantido neutro nesse arranjo, enquanto o eletrodo central é mantido com uma corrente direta fixa. Assim, conforme a distância entre o eletrodo exterior e interior é reduzida, juntamente com uma alta frequência de oscilação dos íons, se alcança um maior poder de resolução por tempo fixo de aquisição (MARAKOV, DENISOV e LANGE, 2009). O Orbitrap tem como base a análise no tempo no qual os íons são confinados ao redor de um eletrodo central com oscilações harmônicas, usando somente corrente direta (3,5 kV) e dispensando o uso de radiofrequência (RF) ou campo magnético. A frequência ω dessas oscilações axiais harmônicas ao longo do eixo Z depende apenas da razão m/z e da constante instrumental k (**Equação 1**), onde:

$$\omega_c = \sqrt{k/m/z} \quad \text{Equação 1}$$

Como resultado dessa análise, milhares de íons são gerados no processo de ionização, necessitando de ferramentas para a interpretação dos dados gerados, sendo elas histogramas com relação às classes dos compostos e diagramas demonstrando os valores de DBE (*double bond equivalent*) – **Equação 2** – versus número de carbono. Com isso, os dados resultantes de uma análise podem ser organizados em classes, número de insaturações e número de anéis. O gráfico de DBE versus número de carbonos auxilia na elucidação estrutural das moléculas

existentes no petróleo em relação à amplitude do grau de alquilação de componentes de cada classe, além de ser um recurso visual de comparação entre amostras.

$$DBE = \text{Carbono} - \frac{\text{Hidrogênio}}{2} + \frac{\text{Nitrogênio}}{2} + 1 \quad \text{Equação 2}$$

1.4 Análise Quimiométrica

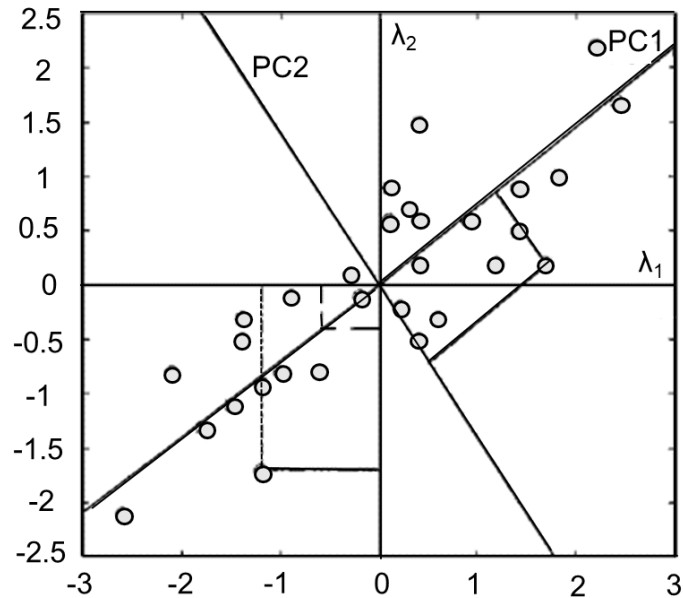
A Quimiometria utiliza ferramentas matemáticas e estatística para a análise de dados, o planejamento e otimização de experimentos na química e áreas correlatas, como astrofísica, geociências e ciências ambientais. Essa área da química permite extrair o máximo de informações úteis de resultados obtidos a partir da análise de dados (FERREIRA, 2015).

Entre os métodos de análise existentes na Quimiometria para o tratamento de dados multivariados está a análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), utilizada para melhor visualização da estrutura das informações, observar similaridade entre amostras e identificar as anômalas (*outliers*), além de apresentar o conjunto de dados em menos dimensões (FERREIRA *et al.*, 1999; SOUZA e POPPI, 2012).

A visualização de dados multivariados em poucas dimensões na PCA é feita por meio da construção de um novo sistema de eixos, chamados Componentes Principais (PC, do inglês *Principal Components*), que representará o conjunto de dados em menos “fatores” (FERREIRA *et al.*, 1999; SOUZA e POPPI, 2012).

Como exemplo, cada ponto presente no gráfico bidimensional da **Figura 10** é gerado a partir de uma linha de matriz de dados, nesse caso λ_1, λ_2 para cada amostra. Os eixos criados a partir da combinação linear das variáveis originais PC₁ e PC₂, os componentes principais, descrevem o máximo espalhamento entre os dados das amostras, permitindo também o cálculo da variação total nos dados.

Figura 10. Gráfico representando um conjunto de dados em duas dimensões (λ_1 , λ_2), utilizando os eixos das componentes principais (PC1, PC2). (Adaptado de FERREIRA *et al.*, 1999)



VALE *et al.* (2018) utilizou tratamento estatístico para prever informações de amostras desconhecidas de petróleo, como $^{\circ}\text{API}$. CARREGOSA *et al.* (2021) fez uso da ferramenta PCA para relacionar parâmetros geoquímicos dos biomarcadores encontrados nos óleos que dão informações sobre evolução térmica, ambiente deposicional e correlação óleo-óleo.

Sendo assim, considerando o exposto, tem-se a necessidade de métodos rápidos, eficientes e que forneçam uma avaliação geoquímica a nível molecular de amostras de petróleos brasileiros com ampla faixa de grau $^{\circ}\text{API}$ voltadas para estudos forenses, uma vez que os trabalhos da literatura citados anteriormente utilizam uma pequena quantidade e variedade de amostras, ou até padrões e que em sua maioria não são representativas em termos dos petróleos explorados no país. Isso facilitará a identificação e caracterização de novas amostras que possam estar envolvidas em acidentes ambientais, permitindo um melhor direcionamento na utilização de tratamentos específicos na retenção do óleo, minimizando os efeitos socioeconômicos e ambientais gerados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este projeto tem como objetivo caracterizar a nível molecular marcadores geoquímicos presentes em petróleos brasileiros e uma amostra envolvendo acidente ambiental, utilizando técnicas analíticas de alta resolução de forma complementar: a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS) e a espectrometria de massas de alta resolução do tipo Orbitrap-HRMS, aliadas a métodos quimiométricos.

O foco da caracterização a nível molecular das substâncias e a semiquantificação dos analitos é monitorar e classificar tais substâncias presentes nos óleos de diferentes valores de °API, de forma a favorecer a otimização dos procedimentos analíticos existentes. A obtenção dos dados sobre os diferentes óleos é um potencial aliado em estudos geoquímicos forenses de petróleos coletados em derramamentos e crimes ambientais.

2.2 Objetivos Específicos

- Realização do fracionamento por cromatografia líquida de 6 amostras de petróleos brasileiros para obtenção das frações de saturados, aromáticos e polares;
- Avaliação das condições cromatográficas por GC×GC-TOFMS de amostras de petróleo brasileiro de diferentes °API (18,4; 24,4; 28,4; 29,6; 45,6), junto com uma amostra fornecida pelo IBAMA do derramamento ocorrido no Nordeste do Brasil em 2019, utilizando conjunto de colunas com fase estacionária apolar/polar;
- Análise qualitativa e semiquantitativa de biomarcadores presentes na fração de saturados por GC×GC-TOFMS;
- Determinação dos parâmetros geoquímicos a partir dos dados obtidos por GC×GC-TOFMS;
- Avaliação dos parâmetros instrumentais da técnica de espectrometria de massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS) utilizando a fonte de ionização *electrospray* (ESI) nos modos de ionização positivo e negativo em amostras de petróleo bruto;

- Análise dos compostos polares (NSO) presentes no petróleo bruto por ESI(±)-Orbitrap-HRMS;
- Utilização da quimiometria por PCA para organização e interpretação dos dados obtidos por GC×GC-TOFMS a partir das razões geoquímicas;
- Integração dados obtidos pelas técnicas GC×GC-TOFMS e Orbitrap-HRMS, aplicados em análises de petróleos voltados para a geoquímica forense.

3 EXPERIMENTAL

3.1 Amostras

Para este estudo foram selecionadas 6 amostras de petróleo bruto (#CO) com valores de °API entre 18,4 e 45,6, sendo uma amostra relacionada ao derramamento de petróleo nas praias do nordeste brasileiro (**Tabela 1**), fornecidas pelo CENPES/Petrobras, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Durante o projeto foi assinado um Acordo de cooperação técnica N° 41/2021 entre a Coordenação-Geral de Licenciamento Ambiental de Empreendimentos Marinhos e Costeiros (CGMAC) da Diretoria de Licenciamento Ambiental e o Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico (LADETEC) do Instituto de Química (N° do Processo SEI UFRJ: 23079.202434/2021-77).

Tabela 1. Especificações de °API e massa aferida (mg) para o fracionamento por cromatografia líquida das amostras de petróleo bruto.

Amostra	°API	Massa aferida para fracionamento (mg)
#CO-0156	18,4	106,53
#CO-0016	24,4	103,52
#CO-0014	28,4	100,75
#CO-0017	29,6	102,80
#CO-0129	45,6	105,32
#IB13	Não informado	101,87

3.2 Material

Na etapa de fracionamento de amostras, foram utilizadas na cromatografia líquida as seguintes vidrarias: bécher (25 mL), bastão de vidro, funil, pipetas de vidro, proveta (10 mL), balões de fundo redondo (50 mL), coluna de vidro e *vials* (2 mL). Foram usados os solventes *n*-hexano (Sigma Aldrich, EUA), diclorometano (Tedia, Brasil) e metanol (Tedia, Brasil).

Para ao aduto de ureia, foram usados tubos de vidro para centrífuga, pipetas de vidro, balões volumétricos (50 mL) e *vials* (2 mL). Entre os solventes utilizados estão a acetona (Tedia, Brasil), água destilada, *n*-hexano (Sigma Aldrich, EUA), além de solução saturada de ureia em metanol.

O solvente diclorometano (99,9% Absolv, Tedia, Brasil) foi usado para a preparação da solução contendo os padrões internos para a análise por cromatografia. Os aditivos ácido fórmico (98-100 %, Merck, Billerici, EUA) e o hidróxido de amônio (PA, Merck, Billerici, EUA) foram utilizados na análise por Orbitrap-HRMS.

Os procedimentos necessitaram do uso de rotaevaporador e centrífuga, além de freezer para o armazenamento.

3.3 Padrões

Na análise por GC×GC-TOFMS, foram utilizados padrões internos deuterados para a semiquantificação dos analitos presentes nas amostras. Foi preparada uma solução contendo os padrões em diclorometano ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$), apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Padrões internos deuterados utilizados na análise por GC×GC-TOFMS, seus íons característicos (m/z) e as concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) das soluções de cada padrão.

Padrão interno	Fórmula molecular	Íon característico/semiquantificação (m/z)	Concentração em solução ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
<i>n</i> -Hexadecano-D ₃₄	C ₁₆ D ₃₄	66	9,86
Pristano-D ₄₀	C ₁₉ D ₄₀	66	10,46
Pireno-D ₁₀	C ₁₆ D ₁₀	212	10,80
Dibenzotiofeno-D ₈	C ₁₂ D ₈ S	192	9,88
<i>n</i> -Tetracosano-D ₅₀	C ₂₄ D ₅₀	66	10,11
5 α -Colestano-D ₆	5 α -C ₂₇ H ₄₂ D ₆	223	10,30

3.4 Preparo das amostras

3.4.1 Fracionamento em cromatografia líquida

Foram selecionadas 5 amostras de petróleo bruto (#CO-0156, #CO-0016, #CO-0014, #CO-0017, #CO-0129) mais uma amostra envolvendo derramamento de petróleo (#IB13) para serem fracionadas. Foi realizado fracionamento em cromatografia líquida para a separação das frações de hidrocarbonetos saturados (SAT), aromáticos (ARO) e polares (POL).

Para a realização da cromatografia líquida, foi aferida em torno de 100,00 mg de cada amostra de petróleo em balança analítica. Após, foi pesada 3 g de sílica para ser utilizada na coluna cromatográfica do fracionamento de cada amostra. Foi posicionado um algodão para obstruir parcialmente a coluna de vidro. O empacotamento das colunas foi realizado adicionando 10,0 mL de *n*-hexano acrescido à sílica. Após observado que não havia desníveis ou rachaduras no empacotamento, e então as amostras de petróleo foram adicionadas no topo da coluna de sílica, uma amostra em cada coluna, com o auxílio de cerca de 250 µL de *n*-hexano, e este procedimento foi realizado em triplicata em cada fracionamento para garantir que houve transferência completa das amostras para as respectivas colunas.

A primeira fração a ser coletada foi a de compostos saturados (FS). Foi utilizado 10 mL de *n*-hexano para a eluição da FS. Após o término da eluição da fração de saturados, foi utilizada a mistura *n*-hexano/diclorometano (8:2) como eluente da fração de aromáticos (FA). Por fim, ao término da eluição da FA, foi utilizada uma mistura de diclorometano/metanol (9:1) para retirar a fração de moléculas polares (FP) da amostra de petróleo. Esses procedimentos foram realizados para todas as amostras de petróleo estudadas.

Ao final do fracionamento em cromatografia líquida, os solventes utilizados como eluentes foram evaporados em rotaevaporador sob pressão reduzida e sem aquecimento.

Para cada amostra, três *vials* de 2 mL foram pesados e rotulados de acordo com as frações das amostras (FS, FA, FP). O conteúdo dos balões contendo as amostras foram transferidos para os respectivos *vials*, realizando 4 extrações com cerca de 200 µL de solvente. Para a FS, o solvente utilizado foi *n*-hexano. Para a FA, o solvente usado foi a mistura *n*-hexano/diclorometano (8:2). Por fim, a FP foi transferida utilizando a mistura de diclorometano/metanol (9:1). Após a transferência

das frações da amostra para os *vials* de 2 mL, estes foram levados para evaporação dos solventes sob fluxo brando de nitrogênio, até massa constante.

As porcentagens (%) de frações de SAT, ARO e POL foram calculadas pela razão entre a massa da fração recuperada (mg) \times 100 / massa inicial de óleo (mg).

3.4.2 Isolamento das frações de hidrocarbonetos cíclicos/ramificados (HCR) de frações de hidrocarbonetos saturados (SAT) por aduto de ureia

A etapa de isolamento das frações de hidrocarbonetos cíclicos/ramificados (HCR) foi realizada a partir da formação de aduto de ureia na fração de SAT.

Para a formação do aduto, a fração foi solubilizada em cerca de 1 mL de *n*-hexano. Transferiu-se 500 μ L da solução para um tubo de centrífuga, adicionando a ele 1 mL de *n*-hexano, 1 mL de acetona e 1 mL de solução saturada de ureia em metanol. Após a formação de aglomerados, os tubos nos quais foram realizados os processos foram levados ao *freezer* durante 12 horas e depois secos em fluxo de nitrogênio. Os cristais formados retêm os hidrocarbonetos lineares (LIN), enquanto os cíclicos/ramificados são retirados adicionando 2 mL de *n*-hexano e centrifugando. O líquido foi vertido para um balão de fundo redondo seco, repetindo o procedimento em quintuplicata e, por fim, evaporando o solvente com o auxílio do rotaevaporador. Após a retirada e o armazenamento dos HCR isolados, os cristais de ureia foram quebrados utilizando 2 mL de água destilada para separar os hidrocarbonetos de cadeia linear. Foi adicionado 2 mL de hexano, formando duas fases, uma orgânica e uma aquosa, agitadas com o auxílio do vórtex. A fase orgânica foi transferida para um balão de fundo redondo seco e o processo de extração dos hidrocarbonetos lineares foi repetida por cinco vezes. Por último, o solvente foi evaporado e a fração isolada foi armazenada.

3.4.3 Preparo das frações de HCR para análises cromatográficas e do óleo bruto por espectrometria de massas

As frações de hidrocarbonetos saturados cíclicos e ramificados (HCR) foram diluídas com 500 μ L de solução de *n*-tetracosano-D₅₀, *n*-hexadecano-D₃₄, pristano-D₄₀, pireno-D₁₀, dibenzotiofeno-D₈ e 5 α -Colestano-D₆, em diclorometano (10 μ g μ L⁻¹), e estas foram analisadas por GC \times GC-TOFMS.

No Orbitrap-HRMS, o óleo bruto foi diluído na proporção 1:1 em tolueno/metanol contendo 0,2% de hidróxido de amônio para aquisição de íons no modo negativo e 0,2% de ácido fórmico para aquisição no modo positivo, obtendo uma concentração final de 1,00 mg mL⁻¹.

3.5 Instrumentação analítica

3.5.1 GC×GC-TOFMS

As análises por GC×GC-TOFMS foram realizadas em um sistema Pegasus 4D (Leco, St. Joseph, MI, EUA), que consiste em um cromatógrafo a gás Agilent Technologies modelo 7890 (Palo Alto, CA, EUA) equipado com um forno secundário, um modulador criogênico de quatro jatos e dois estágios e um espectrômetro de massas com analisador do tipo tempo de voo, modelo Pegasus H11 (Leco, St. Joseph, MI, USA). Para análise da fração de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados do petróleo foi utilizado o conjunto de fase estacionária das colunas cromatográficas no modo apolar/polar. Nesse modo, foi utilizada uma coluna DB-5 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), 5%-fenil-95%-metilsiloxano (30,0 m, 0,18 mm d.i., 0,18 µm df) na primeira dimensão (¹D) e BPX 50 (SGE, Ringwood, Vic, Australia), 50%-fenil-50%-metilsiloxano (1,5 m, 0,1 mm d.i., 0,1 µm df) na segunda dimensão (²D). Os parâmetros cromatográficos encontram-se no **Quadro 3**.

A aquisição e o processamento dos dados foram realizados com o uso do programa ChromaTOF[®] versão 4.4 (Leco, St. Joseph, MI, USA). Os picos individuais foram automaticamente detectados com sinal ruído 100/1. A identificação de hidrocarbonetos e biomarcadores foi realizada pela avaliação dos espectros de massas, tempo de retenção da primeira (¹t_R) e segunda dimensão (²t_R) e ordem de eluição com base em trabalhos anteriores, considerando a similaridade acima de 700 (ARAÚJO *et al.*, 2020; VANINI *et al.*, 2018). As substâncias foram identificadas individualmente buscando-se íons diagnósticos de cada família. Os parâmetros de biomarcadores foram calculados pelos cromatogramas EIC *m/z* 191 (terpanos tri-, tetra- e pentacíclicos) e *m/z* 183 (isoprenoides, pristano e fitano).

Quadro 3. Parâmetros cromatográficos para análise da fração de hidrocarbonetos saturados cíclicos e ramificados do petróleo por GC×GC-TOFMS.

Parâmetros Cromatográficos	Fração de hidrocarbonetos saturados cíclicos e ramificados
Programa de Temperatura	¹ D: 70 °C a 330 °C ² D: 10°C acima do ¹ D
Taxa de aquecimento	20 °C min ⁻¹ até 170°C, em seguida taxa de 2°C min ⁻¹
Vazão	1,5 mL min ⁻¹
Modo de injeção	Sem divisão de fluxo (<i>Splitless</i>)
Volume de injeção	0,5 µL
Período de modulações	6 s
Isoterma inicial	1 min
Temperatura da linha de transferência	300 °C
Temperatura do injetor	290 °C

Para análise semiquantitativa, a concentração dos analitos foram obtidos a partir das **Equações 3 e 4**:

$$\begin{aligned} & \text{Concentração do analito (ng g}^{-1}\text{)} \\ &= \frac{\text{Área do analito} \times \text{Concentração do PI}}{\text{Área do PI}} \end{aligned} \quad \text{Equação 3}$$

A unidade da concentração do padrão interno (PI) utilizada na **Equação 3** foi em ng g⁻¹. Para obter a concentração do padrão interno nesta unidade, utilizou-se a **Equação 4**:

$$\begin{aligned} & \text{Concentração do PI (ng g}^{-1}\text{)} \\ &= \frac{\text{Concentração do PI (ng } \mu\text{L}^{-1}\text{)} \times \text{Volume adicionado (}\mu\text{L)}}{\text{Massa de óleo pesada (g)}} \end{aligned} \quad \text{Equação 4}$$

3.5.2 Orbitrap-HRMS

Nesta etapa foi utilizado um espectrômetro de massas do tipo *Orbitrap Q-Exactive Plus* (*Thermo Scientific, Bremen, Alemanha*) para as análises do conteúdo

de polares (oxigenados, nitrogenados e estruturas contendo enxofre combinado com outros heteroátomos do tipo N e O). A solução da amostra de concentração 1,00 mg mL⁻¹ foi injetada diretamente (infusão direta) na fonte de ESI a um fluxo de 10 µL min⁻¹. A faixa dinâmica de aquisição de íons no analisador do tipo Orbitrap foi de *m/z* 150-1000. Os demais parâmetros da fonte de ESI foram: **i)** *sheath gas flow rate*= (+)10/ (-)6 psi; **ii)** *sweep gas flow rate* = 0; **iii)** voltagem do *spray*= 3300V ESI(-) e 3600V ESI(+); **vi)** temperatura do capilar = 350 °C; **v)** fluxo do gás auxiliar: 0 psi e **vi)** voltagem *S-Lens*: 300. Cada espectro de massas foi adquirido a partir da acumulação de 100 *scans*. As análises foram realizadas nos modos positivo e negativo com poder de resolução de 140.000 FWHM (*full width at half maximum*) à *m/z* 200. A calibração externa para o modo positivo de ionização foi realizada utilizando uma solução contendo cafeína, MRFA (Sal de Acetato Met-Arg-Phe-Ala) e Ultramark[®] 1621 e para o modo negativo a solução continha dodecil sulfato de sódio, tauracolato de sódio e Ultramark[®] 1621, ambas as soluções da *Thermo Scientific*.

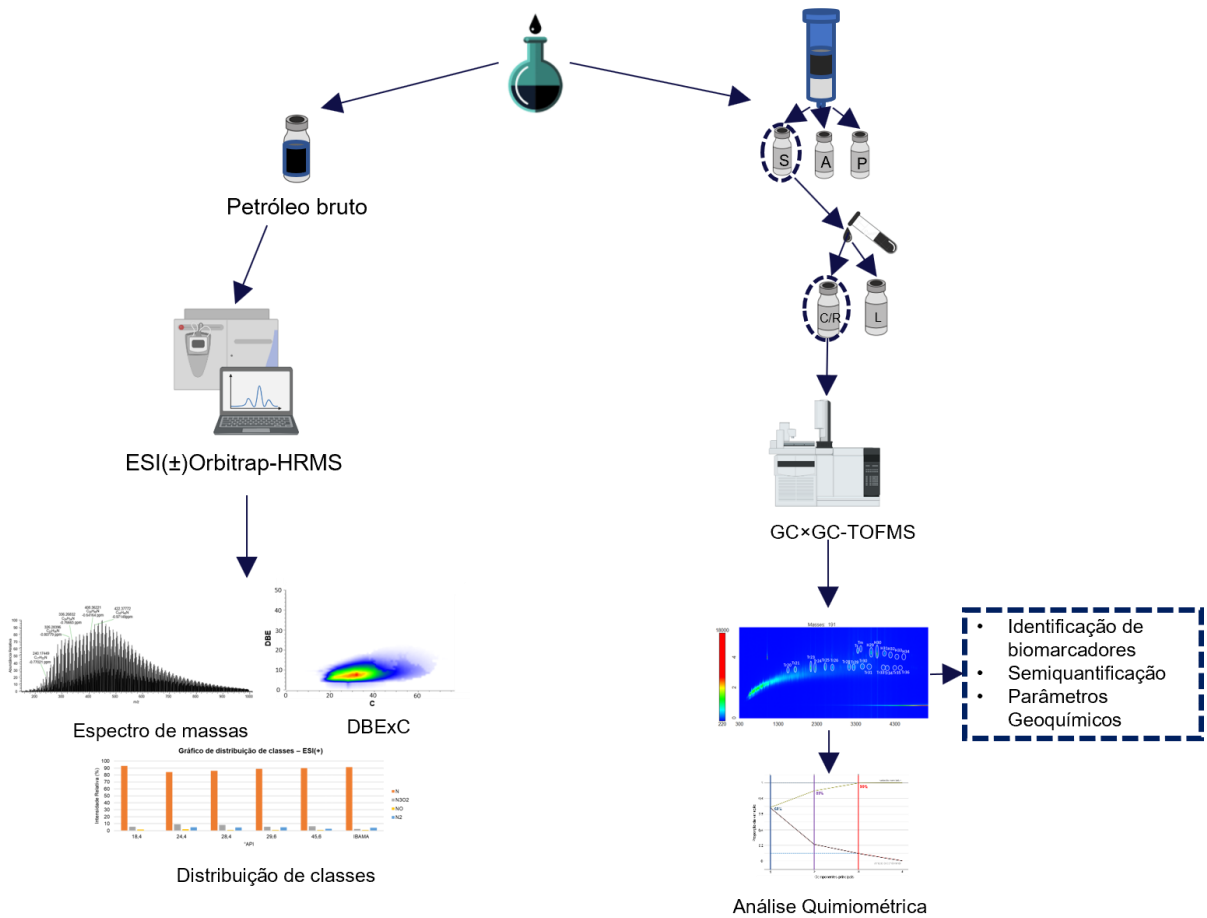
Os espectros obtidos foram adquiridos e processados usando o programa *Xcalibur* versão 3.0 (*Thermo Scientific, Bremen, Alemanha*). Os espectros de massas combinados foram processados utilizando o programa *Composer* versão 1.5 (Código de registro: A746-AC31-607D-40DB-A0C4-2A52-A9BA-B3E7; Sierra Analytics, EUA). As restrições composicionais são ajustadas para se permitir a atribuição de fórmulas com os isótopos ¹²C, ¹H, ¹⁶O, ¹⁴N, ³²S e ¹³C. O erro máximo aceitável de atribuição foi de 5 ppm.

3.5.3 Análise Quimiométrica

A partir das informações obtidas nas análises por GC×GC-TOFMS das 6 amostras de petróleo, realizou-se o tratamento estatístico utilizando o programa *Microsoft Excel*[®] para organização dos dados, cálculos das concentrações e parâmetros geoquímicos. O programa *Orange Canvas*[®], que é gratuito e com interface simplificada, foi utilizado para interpretar os dados e aplicar uma análise multivariada do tipo Análise dos Componentes Principais (PCA), do inglês *Principal Component Analysis*), associando os parâmetros geoquímicos com às características físico-químicas das amostras, como o °API. A amostra #IB13 foi aplicada para avaliar o efeito do comportamento químico molecular das amostras em derramamentos de petróleo.

Na **Figura 11** há uma representação resumida do esquema experimental deste trabalho.

Figura 11. Esquema experimental das análises realizadas para a caracterização de amostras de petróleo.



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Distribuição das classes químicas por cromatografia líquida

A cromatografia líquida permitiu a separação das frações de moléculas de cadeias saturadas, aromáticas e polares presentes nas amostras de petróleo bruto. A partir das massas obtidas de cada fração, pode-se calcular suas porcentagens em relação à massa pesada de amostra e a recuperação total do fracionamento. Os valores encontram-se na **Tabela 3**.

Tabela 3. Massa de amostra utilizada para o fracionamento, porcentagens de cada fração e recuperação de amostra ao final da cromatografia líquida.

Amostra	°API	Massa amostra (g)	SAT%	ARO%	POL%	Recuperação
#CO-0156	18,4	0,10653	38,90%	25,61%	30,68%	95,18%
#CO-0016	24,4	0,10352	46,76%	15,88%	25,13%	87,77%
#CO-0014	28,4	0,10075	39,38%	14,42%	36,99%	90,80%
#CO-0017	29,6	0,10280	51,04%	14,60%	25,34%	90,98%
#CO-0129	45,6	0,10532	51,52%	10,12%	2,03%	63,67%
#IB13	-	0,10187	41,63%	24,70%	25,70%	92,40%

Foi observado que em todas as amostras a maior fração é de compostos saturados, variando de 38,90% para a amostra #CO-0156 (18,4 ° API) a 51,52% para a amostra #CO-0129 (45,6 ° API). As frações de polares apresentaram porcentagens maiores do que a de aromáticos, com exceção da amostra #CO-0129 (petróleo leve), com 2,03% de polares e 10,12% de fração de aromáticos. A amostra relacionada ao derramamento de petróleo no nordeste brasileiro (#IB13) apresentou composição de 41,63% de SAT, 24,70% de ARO e 25,70% de POL, dados que dão um indicativo de similaridade voltado para óleos mais pesados (menores valores de °API). TISSOT e WELTE (1984) registraram na literatura que a composição de óleos crus é de 53,3% de hidrocarbonetos saturados, 28,2% de compostos aromáticos e 18,5% de polares, o que corrobora com os resultados encontrados.

A recuperação das amostras foi calculada a partir da massa inicial e da soma das massas das frações, apresentando valores acima de 87% de recuperação, exceto para a amostra #CO-0129 (45,6 °API), de petróleo leve. Amostras contendo grande fração de *n*-alcanos em sua composição podem ter perdas de voláteis durante o

fracionamento por coluna, causado pela evaporação dessas moléculas e resultando em uma menor recuperação (MAROTTA, AQUINO NETO e AZEVEDO, 2014).

A partir da fração de saturados, foi realizado o aduto de ureia para separar os hidrocarbonetos de cadeia linear dos cíclicos e ramificados, para estudo dos biomarcadores. As massas de cada fração e as porcentagens em relação à massa de saturados e à massa total de amostra estão contidos na **Tabela 4**.

Tabela 4. Massa das frações de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados após o aduto de ureia e as relações com as massas da fração de saturados e da amostra total.

Amostra	°API	m _{C+R} (g)	% Relação à massa de saturados	% Relação à massa de amostra
#CO-0156	18,4	0,02986	55,03%	28,35%
#CO-0016	24,4	0,03520	84,94%	33,04%
#CO-0014	28,4	0,02614	65,88%	25,95%
#CO-0017	29,6	0,03452	71,31%	33,35%
#CO-0129	45,6	0,03694	70,40%	35,93%
#IB13	-	0,04376	103,18%	42,96%

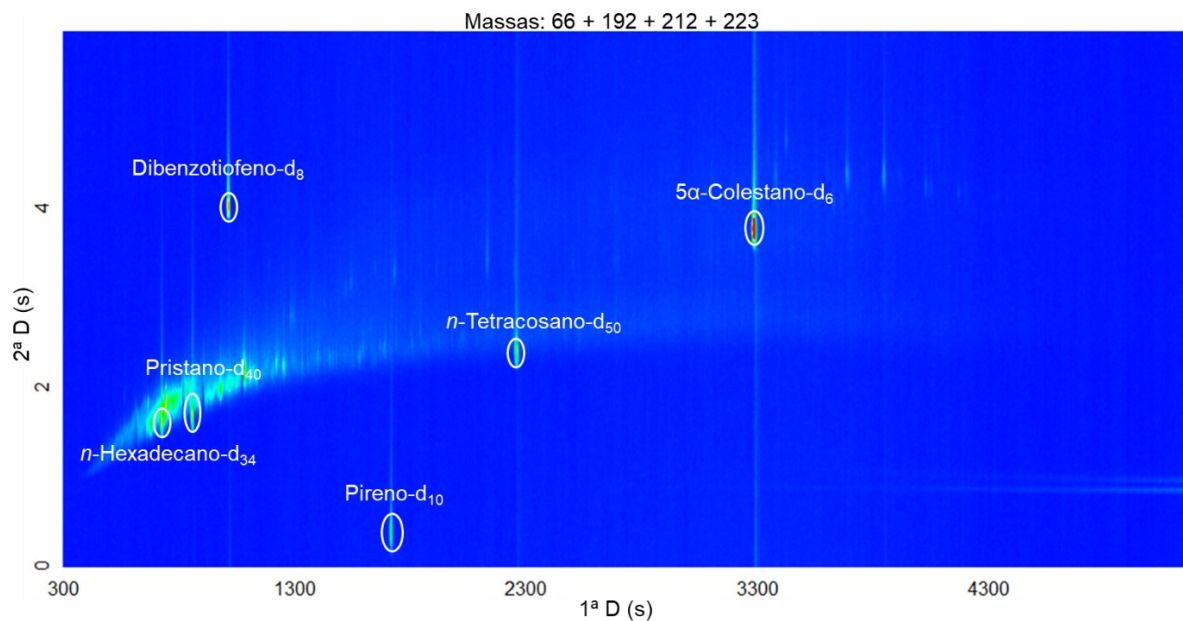
A recuperação em relação à massa de saturados da amostra #IB13 se mostrou igual a 103,18%, com um erro positivo. Esse resultado pode estar ligado a possíveis contaminantes, ou à presença de solvente na amostra, ou até mesmo ter sido gerado por mistura entre as frações de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados com os lineares durante o aduto de ureia. BRITO (2003) sinaliza que o manual da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) sugere que os valores de recuperação dos métodos possuem um intervalo de recuperação aceito, sendo ele dependente da concentração do analito, levando em conta erros sistemáticos. Para concentração do analito maior ou igual à 10%, o intervalo de recuperação aceito é entre 98 – 102%, indicando que a recuperação da amostra #IB13 ainda assim se encontra acima do intervalo aceito, sugerindo a presença de contaminantes, solvente ou mistura de frações.

4.2 Análise qualitativa por GC×GC-TOFMS

A análise por GC×GC-TOFMS foi realizada utilizando a fração de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados separados anteriormente para que se fizesse uma análise qualitativa dos biomarcadores identificados nas amostras. Essa técnica permite a identificação das classes químicas existentes no petróleo por meio da estruturação dos cromatogramas de acordo com as características físico-químicas das moléculas (von MÜHLEN *et al.*, 2006). Assim, analisando os cromatogramas e espectros de massas das substâncias presentes nas amostras e realizando uma comparação com espectros contidos na literatura e em bibliotecas, como a NIST (*National Institute of Standards & Technology*), foi possível identificar os compostos biomarcadores.

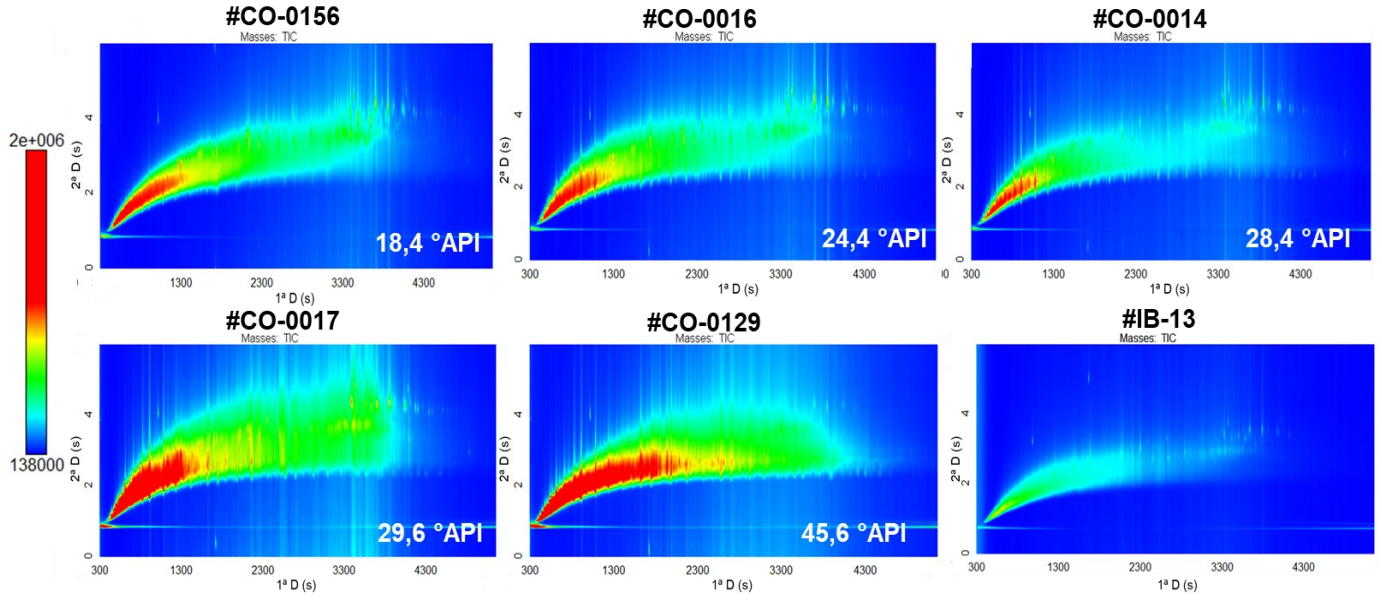
Na **Figura 12**, observa-se o cromatograma de íons extraídos (CIE) dos padrões internos deuterados utilizados a partir das razões massa/carga (m/z) 66, 192, 212 e 223.

Figura 12. Cromatograma de íons extraídos (CIE) para m/z 66, 192, 212, 223, com a identificação dos padrões internos deuterados no plano cromatográfico.



Para as amostras analisadas, foram obtidos os cromatogramas de íons totais (CIT), ilustrados na **Figura 13** por ordem de $^{\circ}$ API. A escala de cores indica o gradiente de intensidade de analitos presentes. A partir de uma comparação visual, é possível observar que as amostras apresentam perfis de distribuição de classes com

intensidade distintas dos analitos presentes. A amostra de petróleo leve, #CO-0129 (45,6 °API), possui maior intensidade de íons nos tempos de retenção na ¹D entre 300 s e 2300 s, em comparação com as outras amostras, demonstrando maior presença de compostos de menor massa molecular. A amostra o IBAMA, #IB13, apresenta menor intensidade dos analitos contidos nesse óleo quando comparada com as outras amostras.

Figura 13. Cromatograma de ions totais (CIT) das amostras de petróleo bruto obtido por GC×GC-TOFMS.

Neste trabalho, foram analisados os cromatogramas de íons extraídos de m/z 183 e 191, com o objetivo de identificar moléculas das classes de n -alcanos, isoalcanos, alquil-bicíclicos e alquil-policíclicos, dentro das quais estão contidos diversos biomarcadores que possibilitam a caracterização do petróleo. A forma como o cromatograma está organizado no espaço bidimensional permite uma melhor visualização das classes químicas de acordo com as suas propriedades físico-químicas e contribui para a identificação das substâncias presentes no petróleo. Tal identificação de compostos é feita por comparação dos espectros de massas gerados nas análises com os existentes em bibliotecas e na literatura, pela ordem de eluição e pelo tempo de retenção dos analitos (COUTINHO, 2017). As diferentes classes químicas podem ser observadas separadamente, como um efeito “telhado”, de forma que cada “telha” se relaciona a um grupo de substâncias de uma classe química que apresenta um determinado número de carbonos, fazendo com que essa sequência auxilie na identificação das moléculas, através de séries homólogas (von MÜHLEN *et al.*, 2006).

Na **Figura 14** estão os cromatogramas de íons extraídos m/z 183 contendo os biomarcadores identificados, sendo eles os n -alcanos Heptadecano (C17) e Octadecano (C18), e os isoprenóides Pristano (Pr) e Fitano (Fi). Essas substâncias se encontram em tempos de retenção (t_R) menores devido à baixa polaridade, de acordo com as **Tabelas 1A** e **2A** contidas no **Apêndice A**. Foi possível fazer uma identificação visual dos n -alcanos e dos alcanos ramificados nos cromatogramas de todas as amostras por meio das séries homólogas, observando nas amostras #IB13 e #CO-0156 (18,4 °API) que essas moléculas se encontram em menor abundância, devido ao gradiente de cor.

Seguindo, na **Figura 15**, encontram-se os espectros de massas das moléculas identificadas.

Figura 14. Cromatogramas de íons extraídos m/z 183 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC \times GC-TOFMS, sendo Heptadecano (C17), Octadecano (C18), Pristano (Pr) e Fitano (Fi).

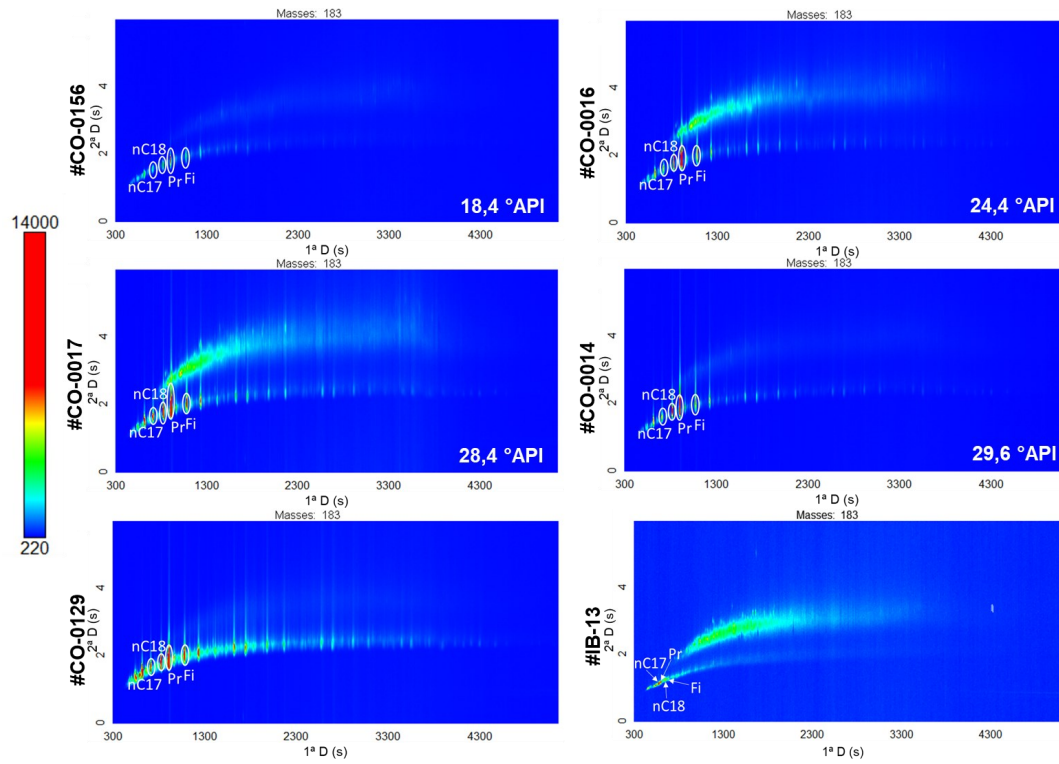
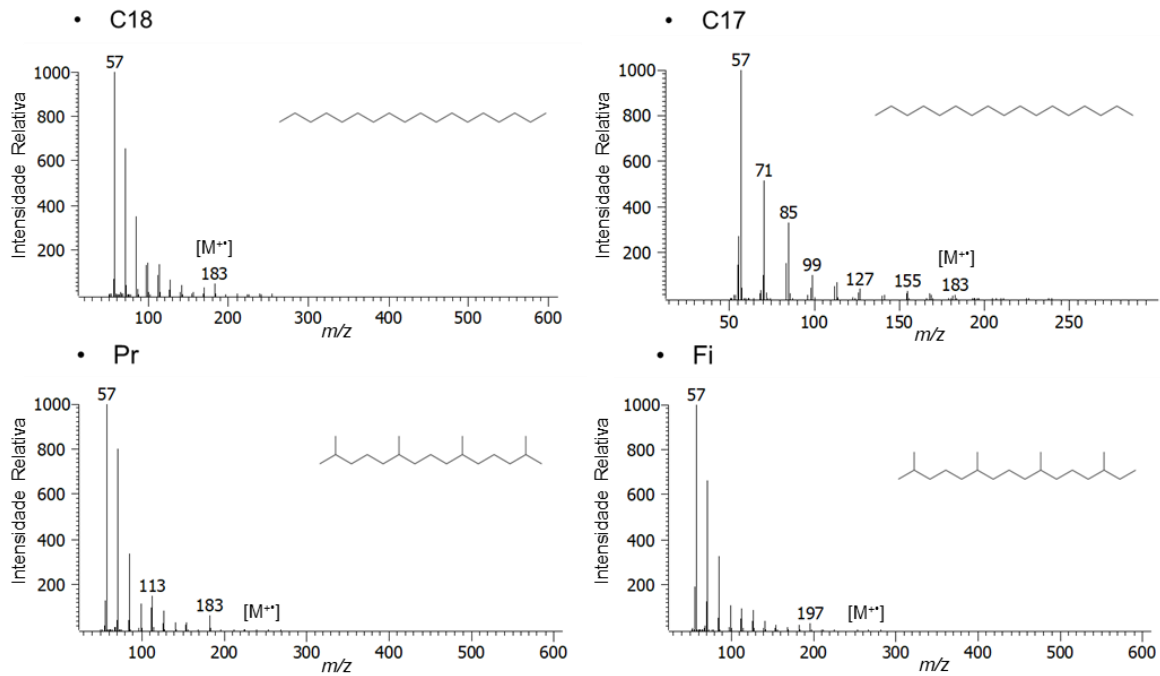


Figura 15. Espectros de massas das moléculas de Heptadecano (C17), Octadecano (C18), Pristano (Pr) e Fitano (Fi), sendo $[M^{+\cdot}]$ o íon molecular.



A **Figura 16** mostra os cromatogramas de íons extraídos m/z 191 contendo os biomarcadores identificados, entre eles as séries homólogas de 17-*nor*-terpanos tricíclicos (Trn) e 17 α (H),21 β (H)-hopanos (Hn), além dos terpanos pentacíclicos 18 α (H)-22,29,30-tris-*nor*-neohopano (Ts), 17 α (H)-22,29,30-tris-*nor*-hopano (Tm) e Gamacerano (GAM). Após, na **Figura 17**, se encontram os espectros de massas das moléculas identificadas.

Figura 16. Cromatogramas de íons extraídos m/z 191 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC \times GC-TOFMS, e seus respectivos biomarcadores identificados.

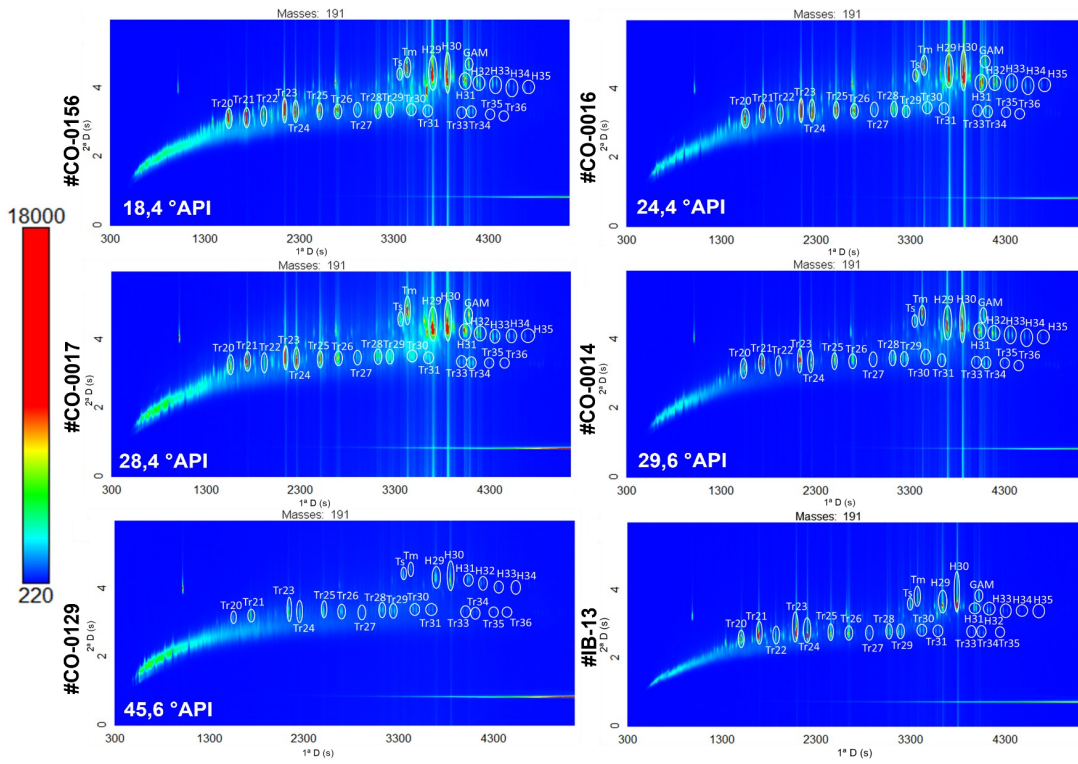
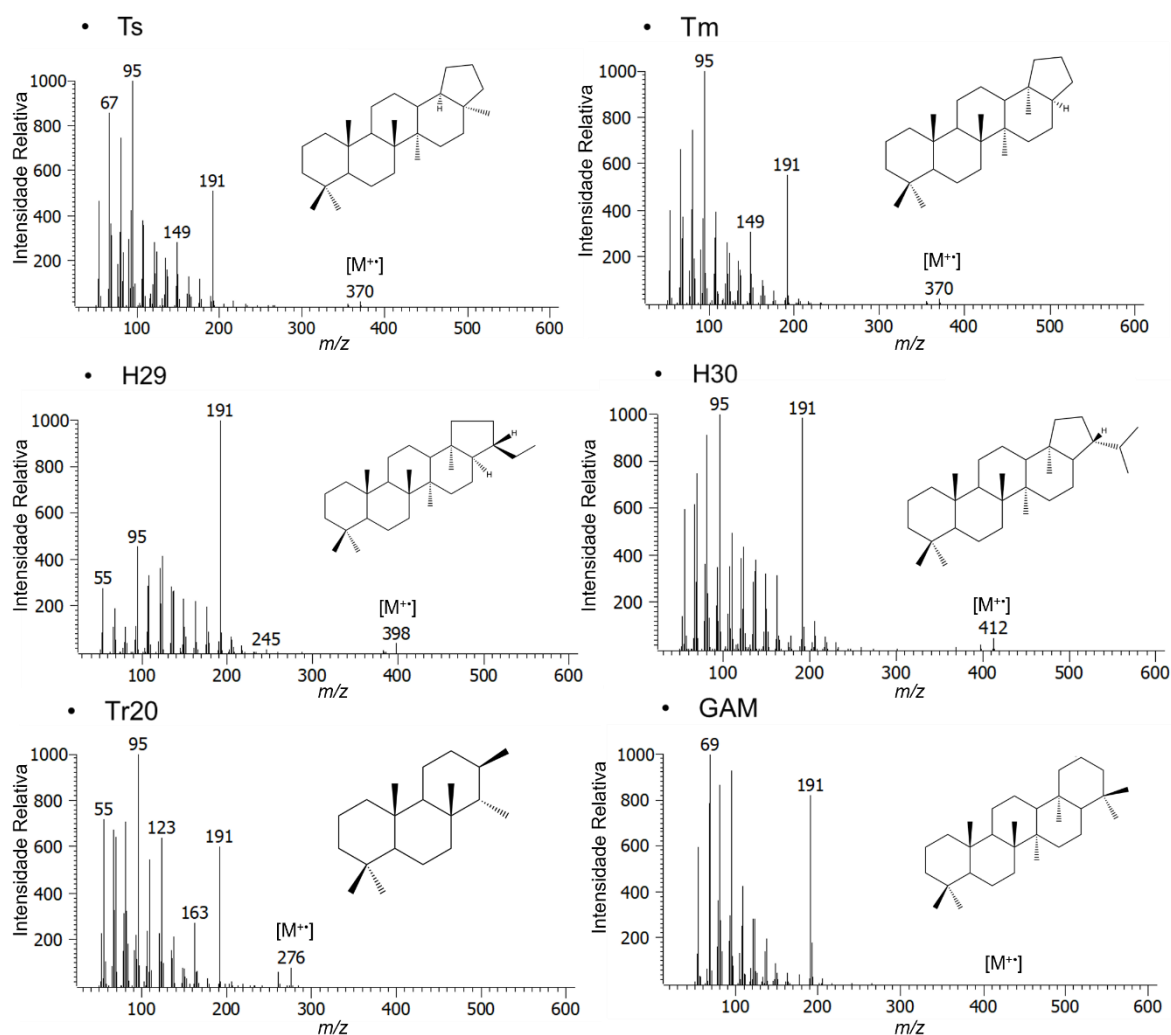


Figura 17. Espectros de massas das moléculas 18 α (H)-22,29,30-trisnor-neohopano (Ts), 17 α (H)-22,29,30-trisnor-hopano (Tm), 17 α (H),21 β (H)-hopanos (Hn) e 17-nor-terpanos tricíclicos, sendo [M⁺] o íon molecular.



Segundo ARAÚJO (2017), terpanos tricíclicos eluem em menor tempo de retenção na ²D do que terpanos tetracíclicos e pentacíclicos, respectivamente. Observa-se a classe dos terpanos tricíclicos presente na faixa de 20 a 36 átomos de carbono nas amostras #CO-0156, #CO-0016, #CO-0017, #CO-0014. Na amostra #CO-0129 não foi encontrado o Tr22, enquanto na #IB13 a série de terpanos tricíclicos foi identificada até a molécula contendo 34 carbonos para o método de análise utilizado.

A série homóloga de 17 α (H),21 β (H)-hopanos (Hn) foi identificada na faixa de 29 a 35 átomos de carbono, exceto na amostra de petróleo leve, #CO-0129

(45,6°API). Visualmente pode-se observar a partir do gradiente de cores que os hopanos com maior abundância em todas as amostras são os H29 e H30. Além disso, os biomarcadores 18 α (H)-22,29,30-trisnor-neohopano (Ts) e 17 α (H)-22,29,30-trisnor-hopano (Tm) foram identificados em todas as amostras.

O terpano pentacíclico Gamacerano (GAM) pôde ser verificado nas amostras #CO-0156, #CO-0016, #CO-0017 e #CO-0014, inclusive na amostra do derramamento do Nordeste (#IB13), porém não foi identificada na amostra #CO-0129 (45,6 °API), de petróleo leve.

Sendo assim, para este conjunto de amostras e utilizando m/z 183 e 191 foram identificados 30 biomarcadores nas amostras #CO-0156 e #CO-0016, de petróleo pesado, 29 e 30 biomarcadores nas amostras de °API intermediário #CO-0014 e #CO-0017, respectivamente, e 27 biomarcadores na amostra #CO-0129, de óleo leve. Na amostra do IBAMA foram identificados 29 biomarcadores.

4.3 Análise semiquantitativa por GC×GC-TOFMS

A análise semiquantitativa dos biomarcadores identificados nas amostras foi realizada a partir a seleção do íon característico para cada classe de moléculas, relacionando a área dos analitos nos cromatogramas com a área de padrões internos de concentrações conhecidas adicionados.

Na **Tabela 5** estão as concentrações obtidas pela semiquantificação dos analitos identificados em $\mu\text{g mL}^{-1}$, considerando a relação sinal/ruído maior do que 100.

Tabela 5. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) obtidas dos biomarcadores identificados nas frações (HCR) das amostras de petróleo analisadas por GC×GC-TOFMS.

Amostra	#CO-0156	#CO-0016	#CO-0014	#CO-0017	#CO-0129	#IB13
°API	18,4	24,4	28,4	29,6	45,6	Não informado
C17	0,09	3,63	4,22	8,21	20,43	0,08
C18	0,98	30,27	14,36	15,30	17,89	0,13
Pr	1,84	16,15	21,05	19,70	46,23	0,14
Fi	0,98	3,94	7,17	6,31	14,97	0,13
Ts	26,72	34,17	12,93	12,49	4,04	51,86
Tm	71,48	87,44	35,22	52,12	1,77	102,62

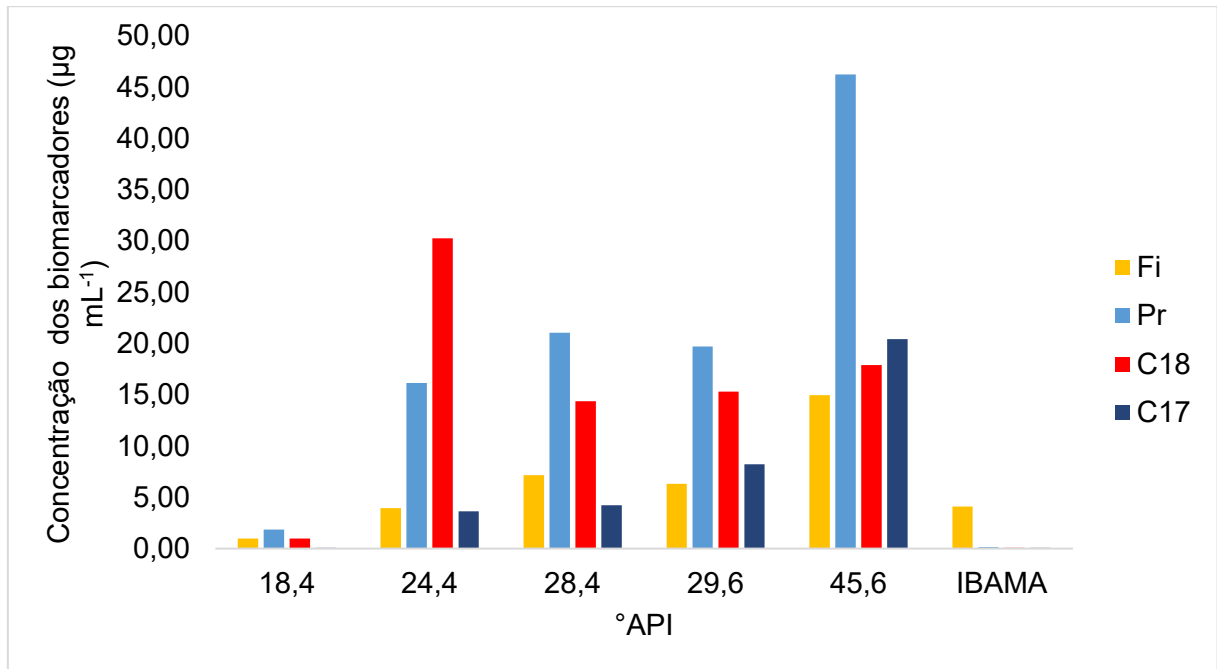
GAM	26,36	26,51	16,27	24,68	*	61,47
H29	304,81	281,85	143,67	174,22	10,39	197,06
H30	167,98	354,89	86,06	183,43	13,56	254,47
H31-S	46,82	76,66	24,36	36,18	3,36	51,79
H31-R	30,43	38,70	35,69	24,46	2,32	39,16
H32-S	24,40	32,56	21,32	19,00	1,15	35,37
H32-R	16,42	23,94	15,38	14,16	1,51	23,36
H33-S	13,34	14,80	10,65	9,42	*	15,57
H33-R	8,27	9,09	6,25	2,82	*	8,72
H34-S	6,20	8,81	6,25	2,03	*	*
H34-R	3,72	6,34	3,26	*	*	*
H35 -S	*	3,50	*	*	*	*
Tr20	93,85	90,02	29,33	34,15	0,20	202,59
Tr21	139,22	156,90	62,94	50,47	7,73	242,80
Tr22	26,40	32,51	3,96	5,13	*	59,45
Tr23	171,00	160,46	66,69	65,64	2,68	566,38
Tr24	104,39	115,69	35,56	79,65	4,16	223,99
Tr25	63,12	81,98	30,74	22,90	6,16	157,76
Tr26	105,90	73,03	39,37	52,02	3,96	109,83
Tr28	37,01	52,06	23,91	13,17	3,93	193,52
Tr29	54,20	43,17	17,57	9,50	3,50	79,52
Tr30	15,51	21,72	5,75	6,83	2,90	40,30
Tr31	11,44	4,59	5,16	7,89	*	27,83
Tr33	5,36	6,67	3,44	3,52	*	12,14
Tr34	7,97	15,01	5,26	11,24	*	22,26
Tr35	*	*	2,36	*	*	*

C17: heptadecano; C18: octadecano; Pr: pristano; Fi: fitano; Ts: C27 18 α , 21 β -trisorhopano; Tm: C27 17 α , 21 β -trisorhopano; H29: C29 $\alpha\beta$ -30-norhopano; H30: C30 $\alpha\beta$ -norhopano; H31-S: C31 22(S)-homohopano; H31-R: C31 22(R)-homohopano; H32-S: C32 22(S)-bisorhopano; H32-R: C32 22(R)-bisorhopano; H33-S: C33 22(S)-trisorhopano; H33-R: C33 22(R)-trisorhopano; GAM: Gamacerano; Trn: Terpano Tricíclico Cn.

*: Concentração do analito abaixo da relação sinal/ruído estabelecida para o método, de S/N 100.

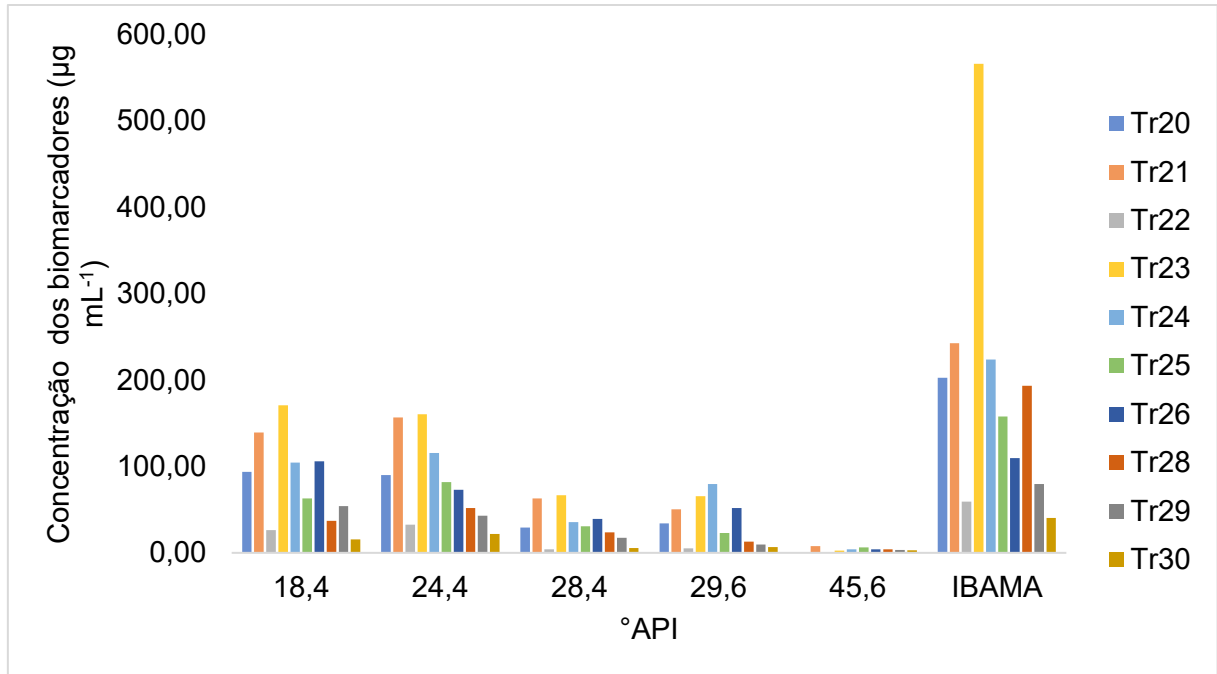
Observa-se que a concentração de Gamacerano é mais elevada para os óleos pesados, sendo 26,36 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em #CO-0156 e 26,51 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em #CO-0016, enquanto não foi identificado na amostra de °API leve, a #CO-0129 utilizando o método proposto. Já na amostra do IBAMA, o valor encontrado é alto quando comparado com as outras amostras, 61,47 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Figura 18. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de C17, C18, Pr e Fi encontrados nas amostras de petróleo.



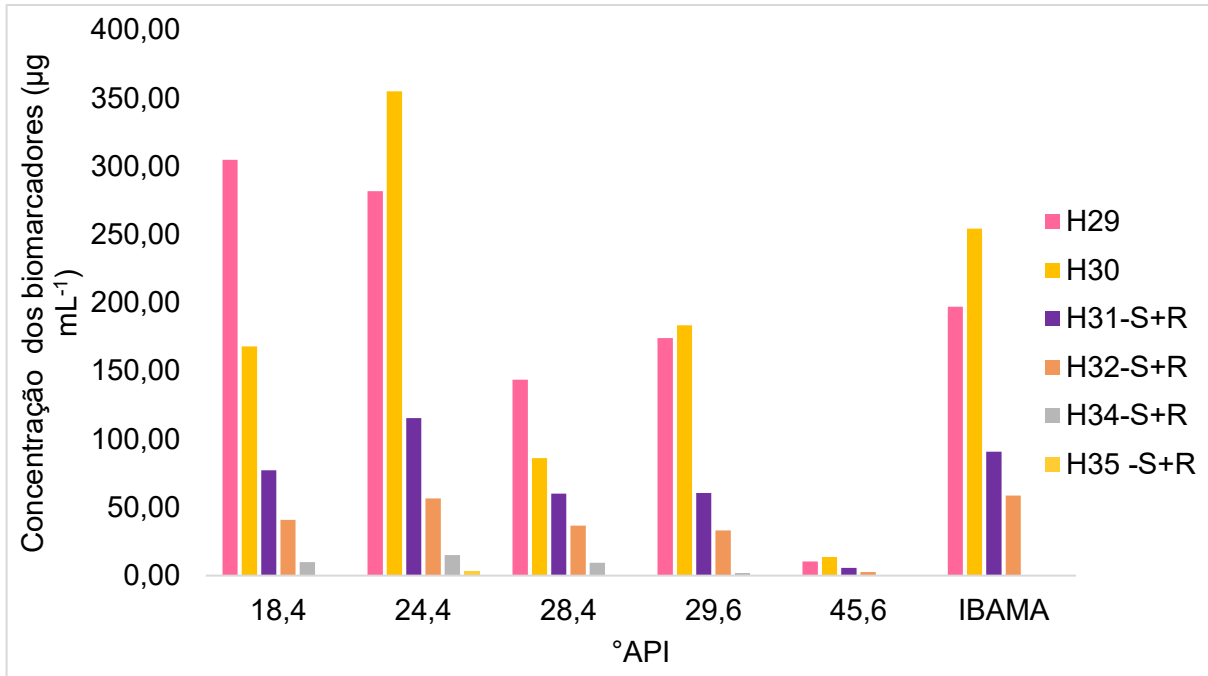
Pela análise da **Figura 18**, na qual estão as concentrações de *n*-alcanos (C17 e C18) e alcanos ramificados (Pr e Fi), identificou-se maior concentração dessas classes na amostra de petróleo leve (45,6 °API). Além disso, é observada uma tendência à redução dessas concentrações com a diminuição do °API. Esse comportamento é esperado quando se trata dos constituintes o petróleo, visto que óleos mais leves são mais ricos em moléculas de cadeias menores e mais simples. A amostra do IBAMA se assemelha à de petróleo pesado (18,4 °API), tendo baixas concentrações de Pr, C18 e C17.

Figura 19. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$), de 17-*nor*-terpanos tricíclicos encontrados nas amostras de petróleo.



Nas concentrações de 17-*nor*-terpanos tricíclicos, **Figura 19**, observa-se uma tendência de menores valores conforme há o aumento do °API, demonstrando a presença de moléculas de maiores cadeias hidrocarbônicas em petróleos mais pesados. Esse comportamento pode ser visto em relação à concentração do biomarcador Tr23, por exemplo, que na amostra de óleo pesado #CO-0156 (18,4 °API) possui $171,00 \mu\text{g mL}^{-1}$; na amostra intermediária #CO-0014 (28,4 °API) possui $66,69 \mu\text{g mL}^{-1}$; e na amostra de petróleo leve #CO-0129 (45,6 °API) possui $2,68 \mu\text{g mL}^{-1}$. A amostra do IBAMA apresenta concentrações dos terpanos tricíclicos com valores acima dos obtidos nas demais amostras, havendo a predominância do Tr23, com $566,38 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Figura 20. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ -hopanos encontrados nas amostras de petróleo.



Assim como foi visto para os 17 -*nor*-terpanos tricíclicos, as concentrações dos $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ -hopanos são maiores em $^{\circ}\text{API}$ menores, ou seja, em petróleos pesados (**Figura 20**). Por exemplo, a concentração de H30 na amostra #CO-0016 (24,4 $^{\circ}\text{API}$) é de $354,89 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto para a amostra intermediária #CO-0017 (29,6 $^{\circ}\text{API}$) é de $183,43 \mu\text{g mL}^{-1}$ e na #CO-0129 (45,6 $^{\circ}\text{API}$) é de $13,56 \mu\text{g mL}^{-1}$. A amostra do IBAMA novamente se assemelha às concentrações obtidas nos óleos pesados, com predominância do H30, com $254,47 \mu\text{g mL}^{-1}$.

4.4 Avaliação dos parâmetros geoquímicos por GC×GC-TOFMS

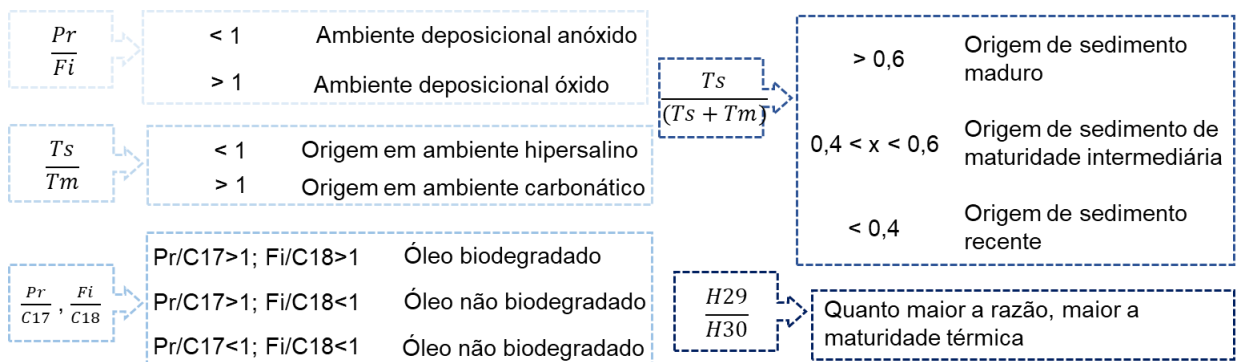
Os parâmetros geoquímicos trazem informações sobre a origem do petróleo, como a maturidade térmica, biodegradação e o paleoambiente deposicional, a partir de razões entre as concentrações dos biomarcadores identificados nas amostras. A **Tabela 6** mostra os resultados obtidos para as amostras de petróleo analisadas.

Tabela 6. Parâmetros geoquímicos calculados para cada amostra de petróleo.

Amostra	#CO-0156	#CO-0016	#CO-0014	#CO-0017	#CO-0129	#IB13
°API	18,4	24,4	28,4	29,6	45,6	Não informado
C17/C18	0,09	0,12	0,29	0,54	1,14	0,62
Pr/Fi	1,88	4,10	2,94	3,12	3,09	1,08
Pr/C17	20,44	4,45	4,98	2,40	2,26	1,75
C17/Pr	0,05	0,22	0,20	0,42	0,44	0,57
Fi/C18	1,00	0,13	0,50	0,41	0,84	1,00
C18/Fi	1,00	7,68	2,00	2,42	1,20	1,00
Ts/Tm	0,37	0,39	0,37	0,24	2,28	0,51
Ts/(Ts+Tm)	0,27	0,28	0,27	0,19	0,70	0,34
Ts/H30	0,16	0,10	0,15	0,07	0,30	0,20
H31S(R+S)	0,61	0,66	0,41	0,60	0,59	0,57
H32S(S+R)	0,60	0,58	0,58	0,57	0,43	0,60
H33S/(S+R)	0,62	0,62	0,63	0,77	*	0,64
Gam/H30	0,16	0,07	0,19	0,13	*	0,24
H29/H30	1,81	0,79	1,67	1,67	0,95	0,77

*: Parâmetro não calculado pela ausência de um ou mais biomarcadores envolvidos no cálculo e que não foram detectados para o método proposto.

A relação dos parâmetros geoquímicos é retomada de forma resumida na **Figura 21** para a interpretação dos dados da **Tabela 6**.

Figura 21. Resumo da relação de parâmetros geoquímicos selecionados.

A razão Pr/Fi é indicador da presença de oxigênio no paleoambiente deposicional. Todas as amostras apresentaram valores acima de 1, indicando que o ambiente que as formou estava em condições subóxicas, em função da oxidação leve do fitano.

Os parâmetros Ts/Tm e Ts/H30 trazem informações sobre a salinidade do ambiente deposicional. No primeiro parâmetro, apenas a amostra #CO-0129 (45,6 °API), de petróleo leve, mostrou valor acima de 1, indicando sua origem em um ambiente hipersalino, enquanto as outras amostras seriam de origem carbonática. Para a razão Ts/H30, os baixos valores obtidos, entre 0,07 e 0,20, corroboram com a informação da origem de menor salinidade das amostras, sendo a maior razão observada para a amostra de óleo leve #CO-0129 (45,6 °API), 0,30, indicando novamente a origem salina.

Já os parâmetros Pr/C17 e Fi/C18, são responsáveis por informações sobre biodegradação que os óleos sofreram após sua acumulação nos reservatórios, visto que os *n*-alcanos são mais passíveis ao ataque de microrganismos do que os alcanos ramificados. O parâmetro Pr/C17 apresentou valores entre 1,75 e 20,44, enquanto o parâmetro Fi/C18 tem valores entre 0,13 e 1,00. Todas as amostras analisadas podem ser consideradas não biodegradadas ou de baixa biodegradação a partir dessa razão, visto que seus parâmetros correspondem as relações $Pr/C17 > 1$ e $Fi/C18 < 1$.

A maturidade do sedimento formador do petróleo pode ser obtida pelo parâmetro $Ts/(Ts+Tm)$, visto que o isômero Ts é mais estável termodinamicamente, logo, é esperado que a concentração desse isômero seja maior do que de Tm quanto mais antigo for o sedimento formador. A amostra #CO-0129, que possui a razão maior do que 0,6, vêm de um sedimento considerado maduro, enquanto todas as outras tem origem em sedimento recente, visto que suas razões entre os isômeros Ts e Tm estão abaixo de 0,4.

A maturidade térmica avalia o nível de calor recebido pela matéria orgânica para promover sua transformação em petróleo, sendo o parâmetro H29/H30 um indicador dessa maturidade. As amostras #CO-0156, de razão H29/H30 igual a 1,81, #CO-0014 e #CO-0017, os dois últimos com H29/H30 igual a 1,67, possuem os maiores valores para essa razão quando comparadas com as demais amostras, demonstrando que possuem maior maturidade térmica. As amostras #CO-0016, #CO-0129 e #IB13 apresentam valores do parâmetro H20/H30 entre 0,77 e 0,95.

4.5 Estudo dos compostos polares e perfil químico por ESI(±)-Orbitrap-HRMS

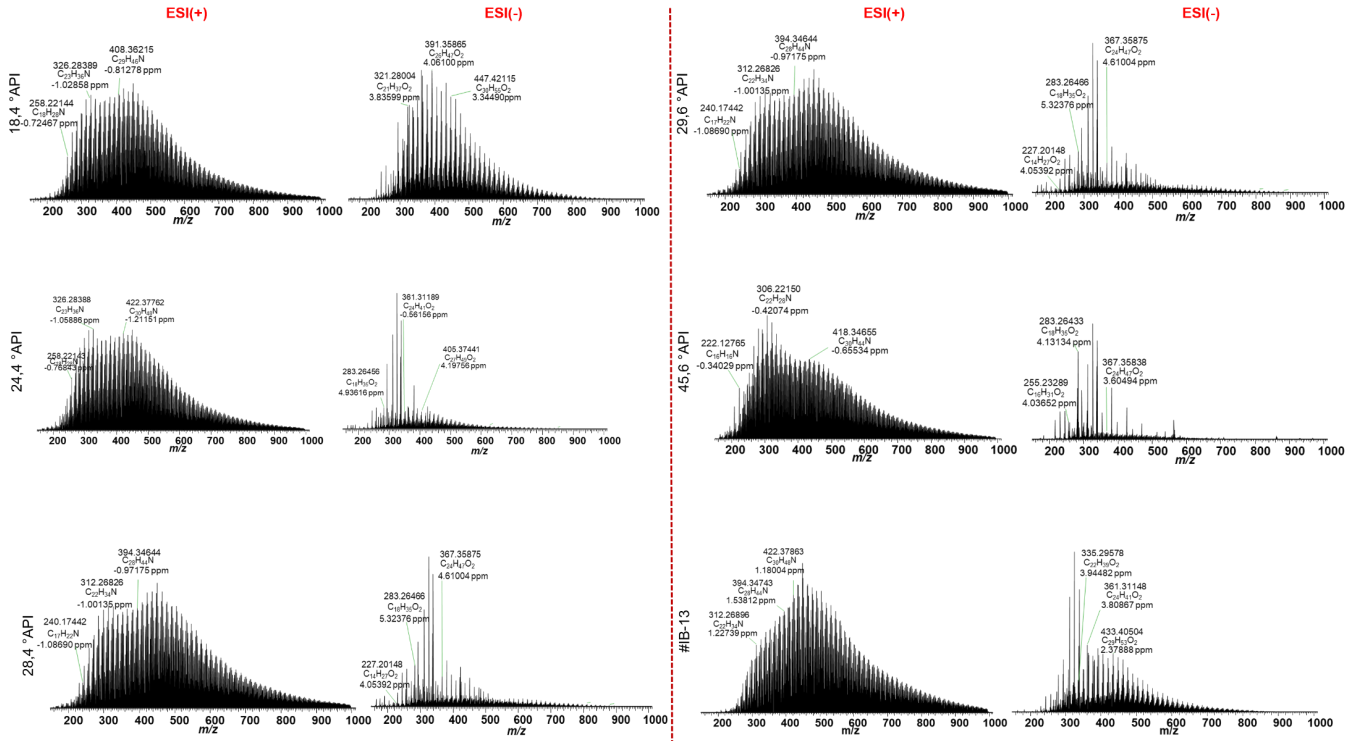
A espectrometria de massas de alta resolução com analisador do tipo Orbitrap e fonte de ionização por *electrospray* (ESI) permitiu a identificação de moléculas

polares de baixa volatilidade, como compostos nitrogenados, oxigenados e sulfurados, existentes nas amostras de petróleo bruto.

Nessa análise, os valores de m/z estão entre 150-1000, sendo essa uma técnica que possui medições acuradas de massas, com erros na faixa de parte por milhão (ppm).

Na **Figura 22** estão apresentados os espectros de massas das amostras de petróleo bruto analisadas, tanto no modo positivo quanto negativo. Observa-se que no modo ESI(+) há uma melhor ionização, gerada pela protonação de compostos nitrogenados $[M+H]^+$, formando uma gaussiana. Já no modo ESI(-), no qual as moléculas são desprotonadas $[M-H]^-$, os espectros possuem menor intensidade, porém são mais ricos em informações químicas em termo de classes existentes nas amostras, como os compostos com caráter ácido.

Figura 22. Espectros de massas de amostras de petróleo bruto obtidos por ESI(±)Orbitrap-HRMS.



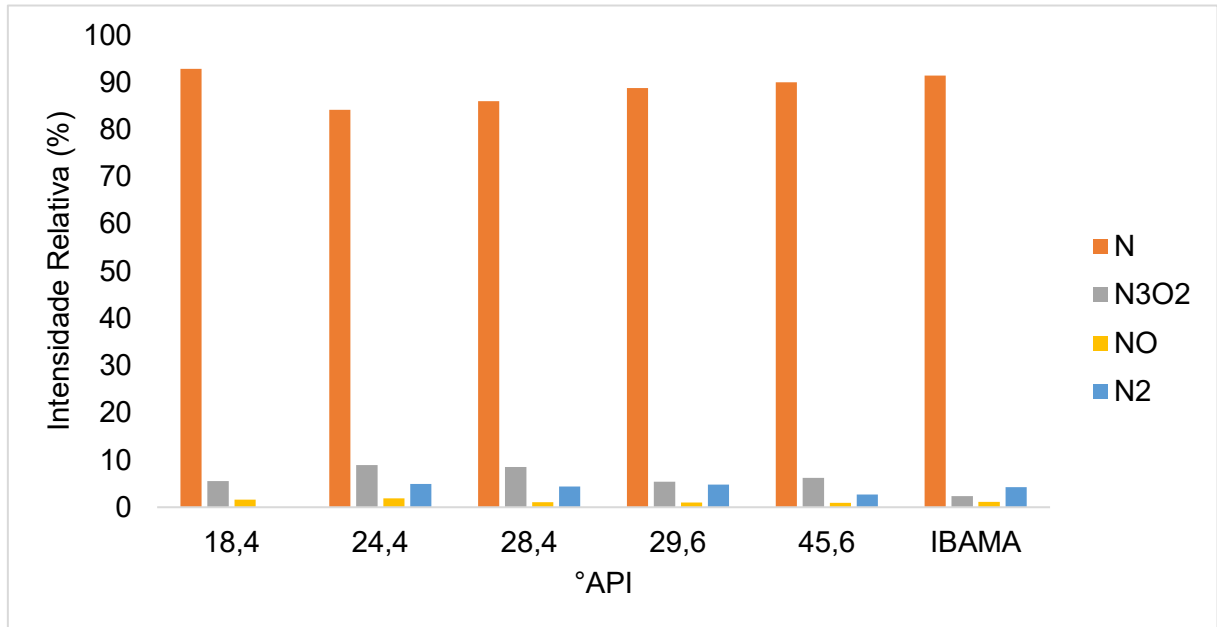
A **Tabela 7** mostra o número de substâncias detectadas por HRMS nos modos positivo e negativo. Os óleos pesados apresentaram cerca de 11 mil analitos no modo positivo e entre 13 e 14 mil analitos no modo negativo. Já as amostras de °API intermediário tiveram no modo positivo entre 10 e 11 mil analitos, e 16 mil analitos no modo negativo. O petróleo leve indicou cerca de 9 mil analitos no modo positivo e 13 mil no negativo. A amostra do IBAMA (#IB13) obteve cerca de 11 mil analitos no modo positivo e 12 mil no modo negativo, se assemelhando aos valores observados para os óleos pesados.

Tabela 7. Número de substâncias detectadas nas amostras de petróleo bruto pela técnica de ESI(±)-Orbitrap-HRMS utilizando o programa XCalibur.

Amostra	°API	ESI (+)	ESI (-)
#CO-0156	18,4	11394	13044
#CO-0016	24,4	11404	14915
#CO-0014	28,4	10974	16213
#CO-0017	29,6	11702	16109
#CO-0129	45,6	9984	13622
#IB13	-	11195	12948

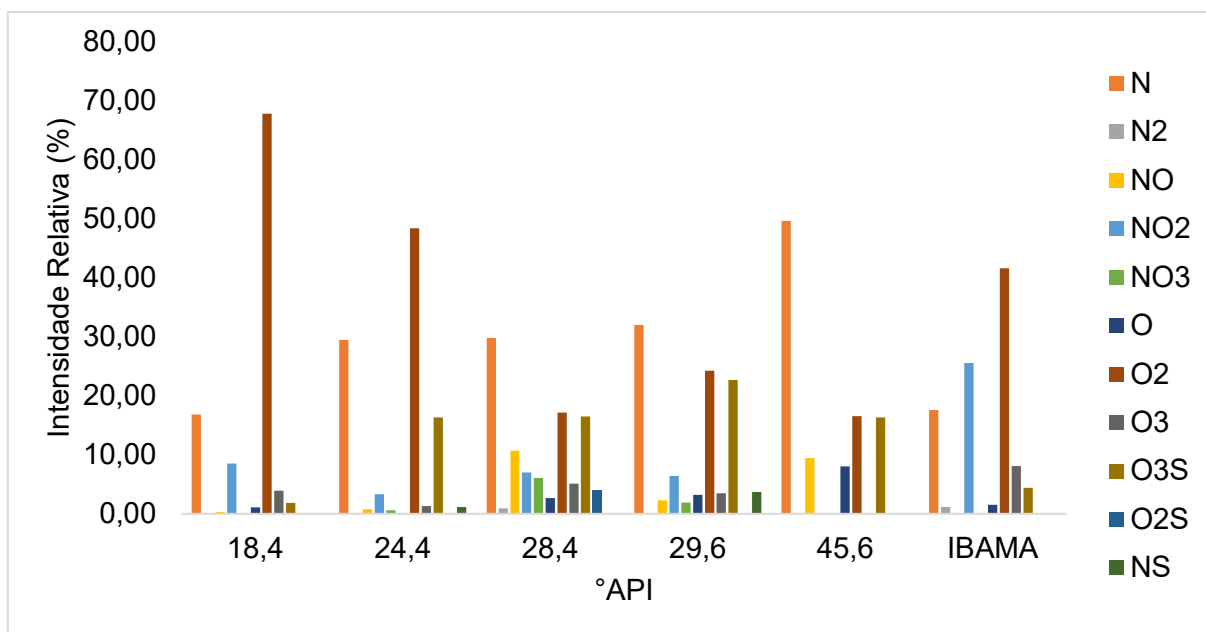
A análise pela técnica Orbitrap-HRMS traz informações sobre a distribuição de classes existentes nas amostras de petróleo. É possível obter a intensidade relativa de cada classe a partir da intensidade total dos grupos homólogos. A **Figura 23** mostra o perfil de distribuição de classes das amostras de petróleo bruto obtido no modo ESI(+). Observa-se maior abundância relativa da classe de nitrogenados [N] em todas as amostras, com 92,9% na amostra #CO-0156 (18,4 °API); 84,2% em #CO-0016 (24,4 °API); 86,0% em #CO-0014 (28,4 °API); 88,8% em #CO-0017 (29,6 °API); 90,0% em #CO-0129 (45,6 °API); e 91,4% em #IB13, sendo também presentes as classes [N₃O₂], [NO] e [N₂] em menor intensidade.

Figura 23. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.



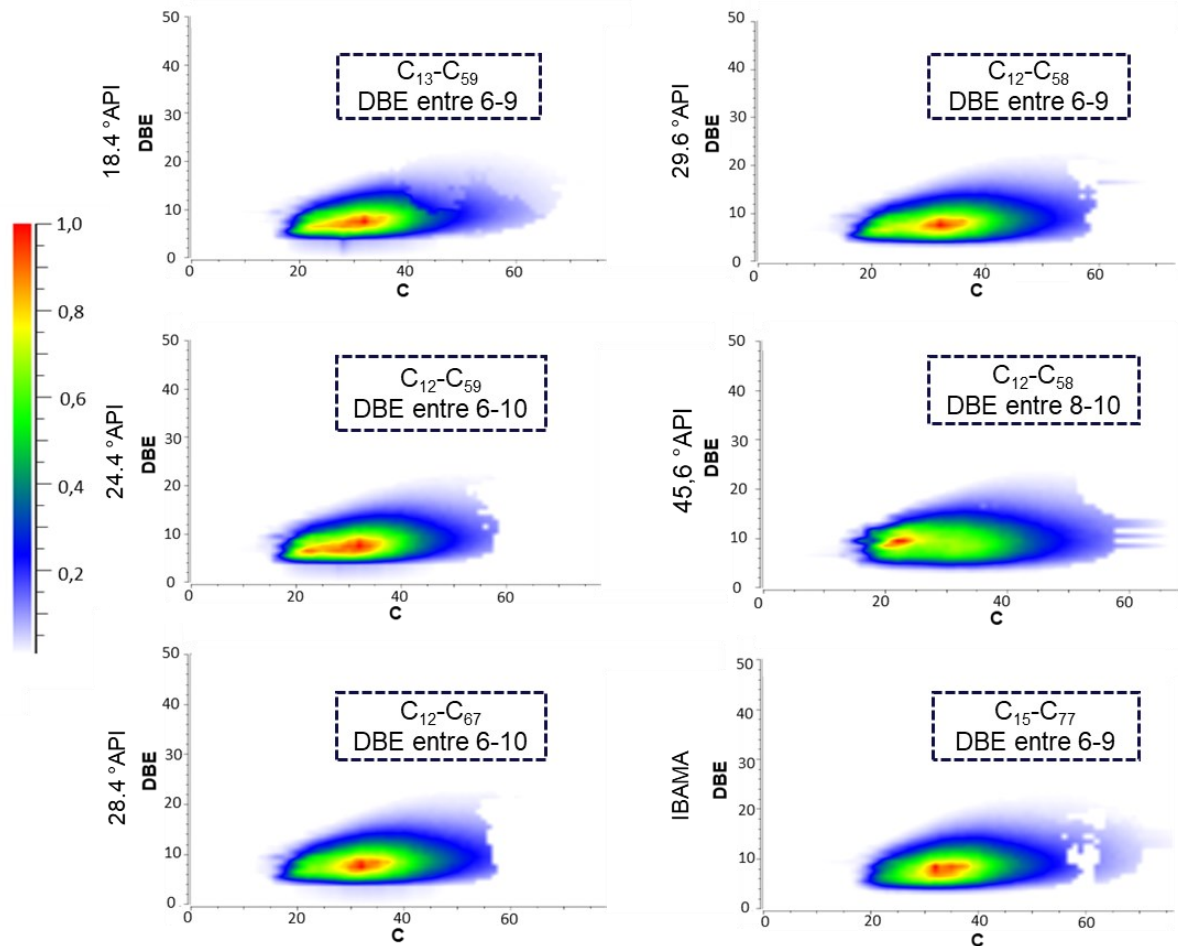
No modo ESI(-), o perfil de distribuição de classes das amostras pode ser visto na **Figura 24**. A classe que se mostra mais abundante é a de oxigenados [O₂], variando de 16,5% a 67,8% e correspondem aos compostos ácidos do petróleo, principalmente nas amostras de °API pesado #CO-0156 (18,4 °API) e #CO-0016 (24,4 °API) e na amostra do IBAMA, #IB13. Outras classes observadas na análise no modo negativo são [N], [N₂], [NO], [NO₂], [NO₃], [O], [O₂], [O₃], [O₃S], [O₂S] e [NS]. A abundância da classe de [O₂] nas amostras indica sua degradação, visto que a alta intensidade relativa da classe dos oxigenados está relacionada com a biodegradação do óleo (VAZ *et al.*, 2013; HUGHEY *et al.*, 2004). Foi obtido anteriormente, de acordo com os parâmetros geoquímicos Pr/C17>1 e Fi/C18<1, com intervalo definido por ALVES *et al.*, que as amostras poderiam ser ditas como não biodegradadas, o que se opõe ao observado na análise por Orbitrap-HRMS. Realizando-se uma avaliação crítica sobre as informações geradas sobre a biodegradação das amostras, a espectrometria de massas de alta resolução é uma técnica moderna que pode indicar a baixa biodegradação dos óleos analisados.

Figura 24. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.



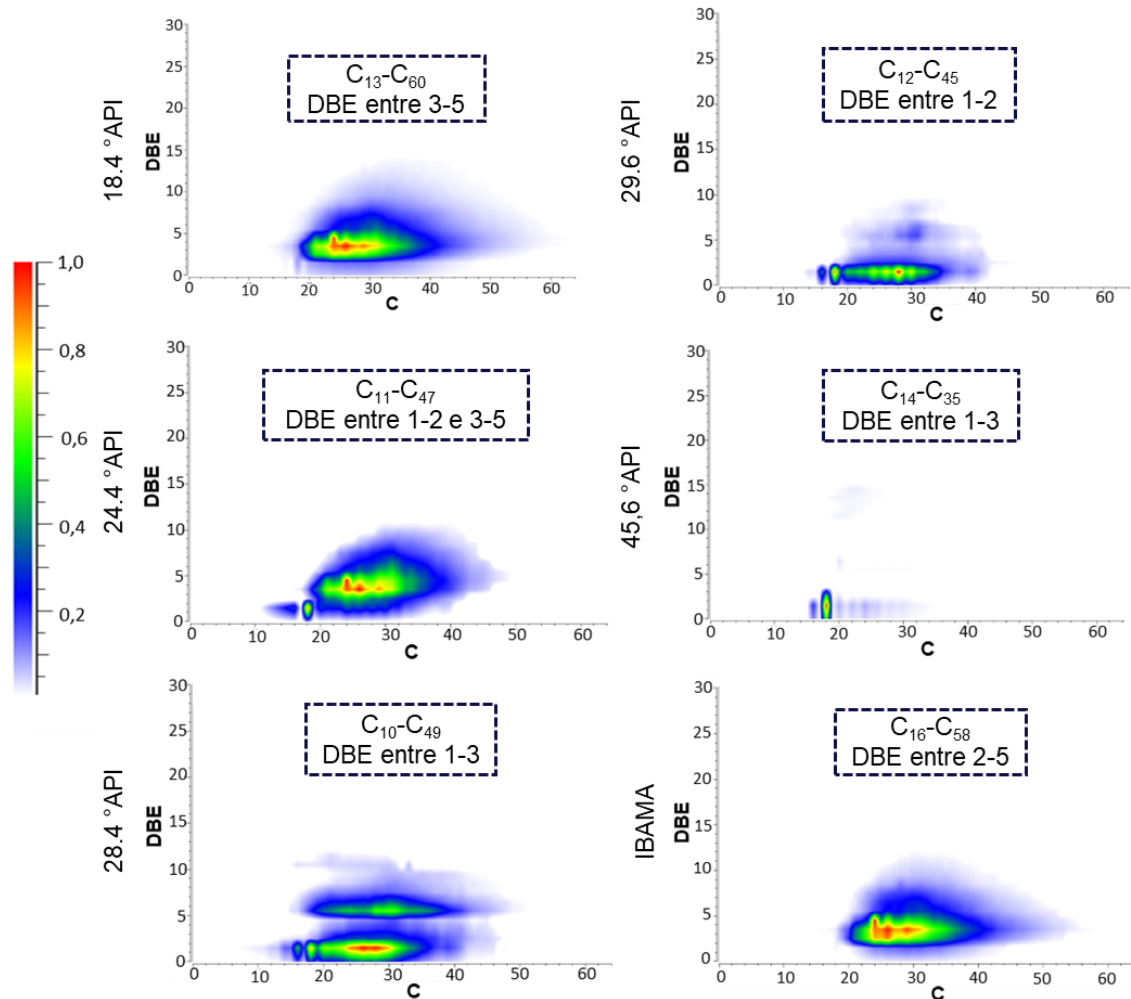
Além disso, a espectrometria de massas gera informações sobre o DBE × número de carbonos (C), que auxiliam na elucidação estrutural dos componentes do petróleo por meio de gráficos. Para o modo positivo (**Figura 25**), que possui a classe dos nitrogenados [N] como a mais abundante, apresenta substâncias variando de C₁₃-C₅₉, com maior abundância dos compostos nitrogenados no DBE entre 6-9 na amostra de 18,4 °API, enquanto na de 24,4°API o número de carbonos varia entre C₁₂-C₅₉, com DBE entre 6-10. Nos óleos de °API intermediários, há substâncias entre C₁₂-C₆₇ e C₁₂-C₅₈, com DBE entre 6-10 e 6-9, para as amostras de 28,4 °API e 29,6 °API, respectivamente. Já na amostra leve, de 45,6 °API, o número de carbonos se encontra entre C₁₂-C₅₈, com DBE entre 8-10. A amostra do IBAMA varia de C₁₅-C₇₇, uma faixa maior que a observada nas outras amostras, com DBE entre 6-9.

Figura 25. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias nitrogenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.



No modo negativo (**Figura 26**), no qual classe dos oxigenados [O₂] é a mais abundante, o gráfico de DBE×C das amostras de petróleo pesado tem substâncias variando de C₁₃-C₆₀, com maior quantidade desses compostos no DBE entre 3-5 na amostra de 18,4 °API, enquanto no óleo de 24,4 °API o número de carbonos varia entre C₁₁-C₄₇, com DBE entre 1-2 e 3-5. Nas amostras intermediárias, há substâncias entre C₁₀-C₄₉, com DBE entre 1-3 na amostra de 28,4 °API, e C₁₂-C₄₅ com DBE entre 1-2 na amostra de 29,6 °API. Na amostra leve, o número de carbonos se encontra entre C₁₄-C₃₅, com DBE entre 1-3. Por último, na amostra do IBAMA, há substâncias entre C₁₆-C₅₈, com DBE entre 2-5.

Figura 26. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias oxigenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(-)- Orbitrap-HRMS.



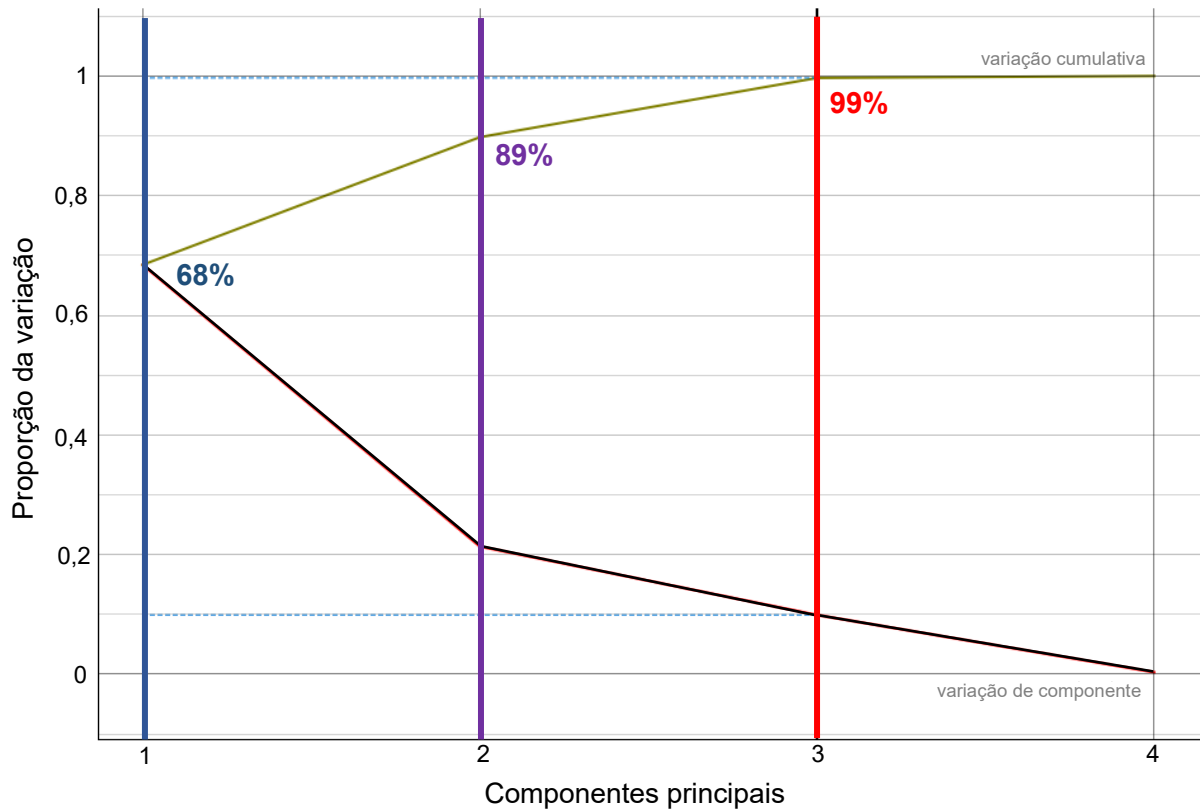
4.6 Estudo Quimiométrico dos dados obtidos por GC×GC-TOFMS

O estudo quimiométrico, realizado a partir dos dados obtidos pela análise por GC×GC-TOFMS da fração de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados, tem como objetivo propor informações e tendências de uma amostra desconhecida a partir de dados de amostras conhecidas.

A **Figura 27** mostra o gráfico de PCA (*Principal Component Analysis*) levando em consideração três parâmetros geoquímicos relacionados com o grau de biodegradação das amostras, que são C17/C18, C17/Pr e C18/Fi. Tais parâmetros foram escolhidos para essa análise pois são razões entre biomarcadores presentes em todas as amostras, inclusive na amostra do derramamento do Nordeste fornecida

pele IBAMA. O °API não pôde ser utilizado como parâmetro visto que não é conhecido na amostra do IBAMA.

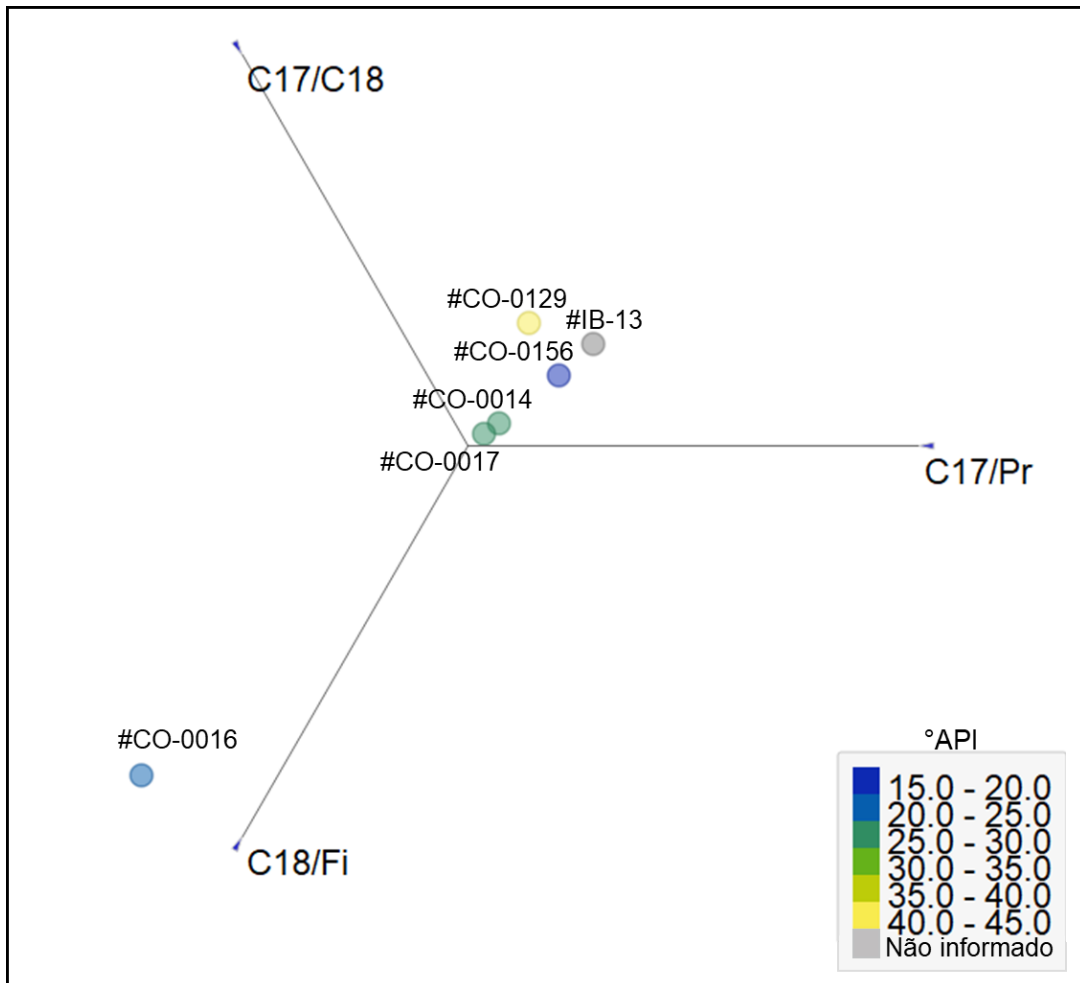
Figura 27. Gráfico de PC *versus* a proporção da variação para PC₁, PC₂ e PC₃ dos parâmetros de biodegradação das amostras de petróleo.



O gráfico de componentes principais (PC) por proporção da variação mostra que uma componente principal (PC₁) representa 68% do modelo. Já a PC₁+PC₂ correspondem a 89% do modelo, sendo mais representativos do que somente PC₁. E o PC₃ representa 99% e a variação dos componentes.

Sendo assim, foi plotado um gráfico de três eixos, utilizando as razões C17/C18, C17/Pr e C18/Fi (**Figura 28**) obtidos para todas as amostras a partir da análise da fração de HCR. As cores dos pontos representam os diferentes °API das amostras de petróleo, de forma a facilitar a visualização e interpretação do gráfico.

Figura 28. Gráfico relacionando os parâmetros geoquímicos de biodegradação C17/C18, C17/Pr e C18/Fi para todas as amostras de petróleo.



Analisando o gráfico, pode-se observar a proximidade da amostra do IBAMA (#IB13) com a amostra #CO-0156, de petróleo pesado, o que é uma indicação que a amostra do IBAMA disponibilizada envolvida no derramamento de petróleo no nordeste brasileiro tende a ser de óleo pesado. Essa tendência também foi encontrada por CARREGOSA *et al.*, 2021, o qual obteve semelhanças do óleo recolhido no derramamento do Nordeste de 2019 com o produzido em Ayacucho, na Venezuela.

É válido ressaltar que o estudo quimiométrico está em constante desenvolvimento e atualização, visto que a inserção de mais amostras aumenta a confiabilidade do modelo, sendo de grande importância na investigação geoquímica de amostras de petróleo.

5 CONCLUSÃO

A integração das técnicas analíticas de alta resolução, GC×GC-TOFMS, ESI(±)-Orbitrap-HRMS, destaca a relevância deste trabalho na avaliação geoquímica molecular de petróleos brasileiros, possibilitando a obtenção do perfil químico de 6 amostras com uma ampla faixa de °API.

Pela técnica GC×GC-TOFMS pode-se realizar análises qualitativas, identificando cerca de 27 a 30 biomarcadores, dentre eles hopanos, terpanos tricíclicos, gamacerano, pristano e fitano. Além disso, observou-se que as concentrações das moléculas presentes no óleo envolvido no derramamento do nordeste brasileiro se assemelham e seguem as tendências obtidas para as amostras de óleo pesado.

Os parâmetros geoquímicos calculados para este conjunto de amostras permitiram avaliar características relacionadas à origem, como o paleoambiente deposicional, grau de maturidade do sedimento formador, degradação térmica e biodegradação, informações importantes para se traçar o histórico químico forense destes óleos. A partir destes dados, foi aplicada a quimiometria por PCA que reuniu parâmetros geoquímicos com informações sobre biodegradação, sendo eles C17/C18, C17/Pr e C18/Fi, mostrando que as três componentes principais representam 99% do modelo. Por análise dos dados obtidos integrando as duas técnicas, observou-se que a amostra do IBAMA se encontra com características próximas à de petróleo pesado.

A análise pela técnica Orbitrap-HRMS permitiu detectar cerca de 10 mil analitos no modo ESI(+) e mais de 12 mil analitos no modo ESI(-) para cada amostra, sendo a classe dos nitrogenados a majoritária no modo positivo e dos oxigenados no modo negativo.

Assim, este trabalho permitiu a caracterização a nível molecular de diferentes perfis químicos de petróleos brasileiros (leves, intermediários e pesados), totalizando uma média de 25-30 mil substâncias detectadas por amostra. Este foi um estudo inicial, e que está em constante atualização. A chegada e análise de novas amostras envolvendo derramamento de petróleo permitirá um aperfeiçoamento cada vez mais robusto do método aplicado, além do desenvolvimento de um banco de dados cada vez mais rico e completo de informações químicas com potenciais aplicações no campo da química forense voltada para crimes ambientais no setor petrolífero, além de fornecer um suporte analítico para o IBAMA.

6 REFERÊNCIAS

- ADAHCHOUR, M. *et al.* Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) II. Modulation and detection. **Trends In Analytical Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 540-553, jun. 2006.
- ALVES, J. C. *et al.* Correlações geoquímicas entre amostras de petróleo da bacia potiguar. **Química Nova**, v. 41, n. 4, p. 417-428, abr. 2018.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Annual Book of ASTM Standards**: section 05 - Petroleum products, lubricants, and fossil fuels. Pensilvânia: ASTM, 2011. 1486 p.
- ARAÚJO, B. Q.; PEREIRA, V. B.; AQUINO NETO, F. R.; AZEVEDO, D. A. Biomarkers of photosynthetic sulfur bacteria in Lower Cretaceous crude oils, East Brazilian marginal basin. **Organic Geochemistry**, v. 148, 104083, 2020.
- AZEVEDO FILHO, E. T.; PERESTRELO, M.; MOLINA-PALMA, M. A. As descobertas do pré-sal e os desafios competitivos da indústria brasileira do setor de petróleo e gás: uma abordagem prospectiva. **Cidades, Comunidades e Territórios**, v. 31, p. 85-98, dez. 2015.
- BEYER, J. *et al.* Environmental effects of the Deepwater Horizon oil spill: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 110, n. 1, p. 28-51, out. 2016.
- BRASIL, N. I. do; ARAÚJO, M. A. S.; SOUSA, E. C. M. de (org.). **Processamento de Petróleo e Gás**. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 266 p.
- CARREGOSA, J. C. *et al.* Multiple reaction monitoring tool applied in the geochemical investigation of a mysterious oil spill in northeast Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, suppl 4, p. 2-20, 2021.
- COLOMBO, J. C. *et al.* Determination of Hydrocarbon Sources Using n -Alkane and Potyaromatic Hydrocarbon Distribution Indexes. Case Study: Rio de La Plata Estuary, Argentina. **Environmental Science & Technology**, v. 23, n. 7, p. 888-894, 1989.
- CONAN, G.; DUNNET, G. M.; CRISP, D. J. The Long-Term Effects of the Amoco Cadiz Oil Spill [and Discussion]. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B**, v. 297, n. 1087, p. 323-333, 1982.
- COUTINHO, D. M. **Especiação e semiquantificação de classes de hidrocarbonetos em petróleo por cromatografia gasosa bidimensional abrangente**. 2017. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.
- FAURE, G. **Principles and Applications of Inorganic Geochemistry: a comprehensive textbook for geology students**. New York: Macmillan Pub. Co., 1991. 626 p.

FERREIRA, M. M. C. et al. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 724-731, set. 1999.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. Campinas: Editora da Unicamp, 2015. 493 p.

G1 RN (Rio Grande do Norte). **PF conclui investigação e diz que navio grego foi responsável por derramamento de óleo que atingiu litoral brasileiro**. 2021. Disponível em: <https://g1.globo.com/rn/rio-grande-do-norte/noticia/2021/12/02/pf-conclui-investigacao-e-diz-que-navio-grego-foi-responsavel-por-derramamento-de-oleo-que-atingiu-litoral-brasileiro.ghtml>. Acesso em: 27 maio 2022.

HEDBERG, H. D. Geologic Aspects of Origin of Petroleum. **Bulletin Of the American Association of Petroleum Geologists**, New Jersey, v. 48, n. 11, p. 1755-1803, nov. 1964. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA) (Brasil). **Vistoria em áreas com localidades oleadas no litoral brasileiro nos dias 04/03 a 19/03/2020**. 2020. Elaborado por IBAMA-Emergência Ambiental, NMI-CE. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/emergenciasambientais/2020/manchasdeoleo/2020-03-19_LOCALIDADES_AFETADAS.pdf. Acesso em: 26 maio 2022.

HOLBA, A. G. et al. Tetracyclic polyprenoids: Indicators of freshwater (lacustrine) algal input. **Geology**, v. 28, n. 3, p. 251-254, mar. 2000.

HUGHEY, C.A.; RODGERS, R. P.; MARSHALL, A. G.; WALTERS, C. C.; QIAN, K.; MANKIEWICZ, P. Acidic and neutral polar NSO compounds in Smackover oils of different thermal maturity revealed by electrospray high field Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Organic Geochemistry**, v. 35, p. 863-880, 2004.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA) (França) (org.). **Oil Market Report**. 2022. Disponível em: <https://www.iea.org/topics/oil-market-report>. Acesso em: 04 maio 2022.

KAPLAN, I. R. et al. Forensic Environmental Geochemistry: differentiation of fuel-types, their sources and release time. **Organic Geochemistry**, Grã-Bretanha, v. 27, n. 5/6, p. 289-317, 1997.

KUMARI, A.; KAUR, R.; KAUR, R. A review on fate and remediation techniques of oil spills. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 1, p. 111-116, jan. 2019.

LIU, Z.; PHILLIPS, J. B. Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography using an On-Column Thermal Modulator Interface. **Journal Of Chromatographic Science**, v. 29, n. 6, p. 227-231, jun. 1991.

LUCCHESI, C. F. Petróleo. **Estudos Avançados**, v. 12, n. 33, p. 17-40, 1998.

MAKAROV, A. et al. Performance Evaluation of a Hybrid Linear Ion Trap/Orbitrap Mass Spectrometer. **Anal. Chem.**, v. 78, n. 7, p. 2113-2120, fev. 2006.

MAKAROV, A.; DENISOV, E.; LANGE, O. Performance Evaluation of a High-field Orbitrap Mass Analyzer. **J. Am. Soc. Mass Spectrom.**, Bremen, v. 20, n. 8, p. 1391-1396, jan. 2009.

MAROTTA, E.; AQUINO NETO, F. R. de; AZEVEDO, D. A. Separação e determinação quantitativa dos alcanos lineares e dos cíclicos/ramificados em petróleos brasileiros por aduto de ureia e cromatografia gasosa: um estudo de caso revisitado. **Química Nova**, v. 37, n. 10, p. 1692-1698, set. 2014.

MARTINS, L. L. *et al.* Characterization of Acidic Compounds in Brazilian Tar Sand Bitumens by LTQ Orbitrap XL: Assessing Biodegradation Using Petroleomics. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 28, n. 5, p. 848-857, maio 2017.

MCSWEEN JR, H.Y.; RICHARDSON, S. M.; UHLE, M. E. **Geochemistry**: pathways and processes. 2. ed. New York: Columbia University Press, 2003. 381 p.

MILANI, E. J.; BRANDÃO, J. A. S. L.; ZALÁN, P. V.; GAMBOA, L. A. P. Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 18, n. 3, p. 352-396, 2000.

MURAWSKI, S. A. et al (ed.). **Deep Oil Spills**: facts, fate, and effects. Suíça: Springer, 2020. 617 p.

NEAMAH, A. I. Separation of the Petroleum System. **The Hilltop Review**, Michigan, v. 7, n. 1, p. 81-99, dez. 2014.

OLIVEIRA, K. M.. **Explorando a Composição Química Molecular de Cogumelos Comestíveis e Alucinógenos com Potenciais Aplicações em Áreas Forenses utilizando Técnicas Analíticas de Alto Desempenho**. 2022. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

PENA, P. G. L. et al. Derramamento de óleo bruto na costa brasileira em 2019: emergência em saúde pública em questão. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 2, e00231019, jan. 2020.

PETERS, K. E.; WALTERS, C. C.; MOLDOWAN, J. M. **The Biomarker Guide**: II. biomarkers and isotopes in petroleum systems and earth history. 2. ed. EUA: Cambridge University Press, 2005b. 2 v.

PEYERL, D. **O petróleo no Brasil: exploração, capacitação técnica e ensino de geociências (1864-1968)**. São Bernardo do Campo: EdUFABC, 217. 278 p.

PHILP, R. P. Forensic Geochemistry. **Natural Resources & Environment**, v. 12, n. 3, p. 212-229, 1998.

PHILP, R. P.; LEWIS, C. A. Organic Geochemistry of Biomarkers. **Annual Review Of Earth And Planetary Sciences**, v. 15, p. 363-395, 1987.

RICHETTI, G. P.; MILARÉ, T. O Óleo no Nordeste Brasileiro: Aspectos da (an)alfabetização Científica e Tecnológica. **Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**, p. 1-29, e29065, out. 2021.

SCHIAVI, M. T.; HOFFMANN, W. A. M. Cenário Petrolífero: sua evolução, principais produtores e tecnologias. **Rev. Digit. Bibliotecon. Cienc. Inf.**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 259-278, maio 2015.

SCHMIDT, E.M. **Espectrometria de massas por FT-ICR MS e Orbitrap: Química forense, análise de petróleo e seus derivados**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

SILVA, C. G. A. da. **Caracterização geoquímica orgânica das rochas geradoras de petróleo das formações Irati e Ponta Grossa da Bacia do Paraná**. 2007. 238 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SILVA, S. R. C. da. **Caracterização geoquímica de óleos acumulados na Bacia de Campos**. 2011. 143 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

SOUZA, A. M. de; POPPI, R. J. Experimento didático de Quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223-229, fev. 2012.

SPEIGHT, J. G. **The Chemistry and Technology of Petroleum**. 4. ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006. 984 p.

THOMAS, J. E. (org.). **Fundamentos de Engenharia de Petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência, PETROBRAS, 2001.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. **TN64287-EN 12/16S**: High-Resolution, Accurate-Mass Orbitrap Mass Spectrometry – Definitions, Opportunities, and Advantages. 64287 ed. Bremen: Thermo Fisher Scientific, 2016. 5 p.

TISSOT, B. P.; WELTE, D. H. **Petroleum Formation and Occurrence**. 2. ed. Berlim: Springer-Verlag, 1984.

VALE, D. L. et al. Comprehensive and multidimensional tools for crude oil property prediction and petrochemical industry refinery inferences. **Fuel**, v. 223, p. 188-197, mar. 2018.

VANINI, G. **Aplicação de técnicas analíticas avançadas na caracterização a nível molecular do petróleo bruto**. 2018. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

VANINI, G.; PEREIRA, V. B.; ROMÃO, W.; GOMES, A. O.; OLIVEIRA, L. M. L.; DIAS, J. C. M.; AZEVEDO, D. A. Analytical advanced techniques in the molecular-level characterization of Brazilian crude oils. **Microchemical Journal**, v. 137, p. 111-118, 2018.

VAZ, B.G.; SILVA, R.C.; KLITZKE, C.F.; SIMAS, R.C.; NASCIMENTO, H.D.L.; PEREIRA, R.C.L.; GARCIA, D.F.; EBERLIN, M.N.; AZEVEDO, D.A. Assessing biodegradation in the llanos orientales crude oils by electrospray ionization ultrahigh resolution and accuracy Fourier transform mass spectrometry and chemometric analysis. **Energy Fuels**, v. 27, p. 1277-1284, 2013.

VECCHIA, I. D. **Uso de biomarcadores geoquímicos na avaliação da contaminação antropogênica na enseada de Porto Belo, SC**. 2009. 47 f. TCC (Graduação em Química-Bacharelado) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

VIEIRA, D. S. **Derramamento de óleo no litoral do nordeste do Brasil**. 2020. 33 f. TCC - Curso de Bacharelado Interdisciplinar em Ciências e Tecnologia do Mar, Universidade Federal de São Paulo - Campus Baixada Santista, Santos, 2020.

VOLKMAN, J. K. *et al.* A geochemical reconstruction of oil generation in the Barrow Sub-basin of Western Australia. **Geochimica Et Cosmochimica Acta**, v. 47, n. 12, p. 2091-2105, 1983.

von MÜHLEN, C. *et al.* Caracterização de amostras petroquímicas e derivados utilizando cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 765-775, jul. 2006.

WELLS, P. G. The iconic Torrey Canyon oil spill of 1967 - Marking its legacy. **Marine Pollution Bulletin**, v. 115, n. 1-2, p. 1-2, fev. 2017.

APÊNDICE A: TABELAS E FIGURAS

Tabela 1A. Tempos de retenção (t_R) dos analitos em 1D e 2D nos cromatogramas obtidos por GC×GC-TOFMS, com o íon de m/z 191 utilizado para a semiquantificação da amostra #IB13.

Nome	Grupo	1t_R (s)	2t_R (s)	Quant mass
Tr20	Terpanos tricíclicos	1500	2,600	191
Tr21	Terpanos tricíclicos	1686	2,700	191
Tr22	Terpanos tricíclicos	1866	2,640	191
Tr23	Terpanos tricíclicos	2082	2,760	191
Tr23	Terpanos tricíclicos	2076	2,710	191
Tr23	Terpanos tricíclicos	2082	2,770	191
Tr24	Terpanos tricíclicos	2202	2,680	191
Tr25	Terpanos tricíclicos	2448	2,740	191
Tr26	Terpanos tricíclicos	2628	2,750	191
Tr26	Terpanos tricíclicos	2646	2,740	191
Tr28	Terpanos tricíclicos	3048	2,800	191
Tr28	Terpanos tricíclicos	3048	2,790	191
Tr28	Terpanos tricíclicos	3072	2,830	191
Tr28	Terpanos tricíclicos	3072	2,790	191
Tr28	Terpanos tricíclicos	3078	2,810	191
Tr29	Terpanos tricíclicos	3168	2,770	191
Tr29	Terpanos tricíclicos	3198	2,800	191
Tr29	Terpanos tricíclicos	3198	2,770	191
Tr29	Terpanos tricíclicos	3198	2,760	191
Tr30	Terpanos tricíclicos	3390	2,840	191
Tr30	Terpanos tricíclicos	3426	2,830	191
Tr31	Terpanos tricíclicos	3564	2,800	191
Tr31	Terpanos tricíclicos	3600	2,800	191
Tr33	Terpanos tricíclicos	3918	2,810	191
Tr33	Terpanos tricíclicos	3960	2,790	191
Tr34	Terpanos tricíclicos	4014	2,790	191
Tr34	Terpanos tricíclicos	4056	2,760	191
H29	Terpanos pentacíclicos	3624	3,590	191
H30	Terpanos pentacíclicos	3786	3,600	191
H31	Terpanos pentacíclicos	3966	3,500	191
H31	Terpanos pentacíclicos	3984	3,500	191
H32	Terpanos pentacíclicos	4104	3,450	191
H32	Terpanos pentacíclicos	4134	3,440	191
H33	Terpanos pentacíclicos	4272	3,420	191
H33	Terpanos pentacíclicos	4314	3,410	191
Ts	Terpanos pentacíclicos	3288	3,610	191
Tm	Terpanos pentacíclicos	3366	3,770	191
GAM	Terpanos pentacíclicos	4014	3,870	191

Tabela 2A. Tempos de retenção (t_R) dos analitos em 1D e 2D nos cromatogramas obtidos por GC \times GC-TOFMS, com o íon de m/z 183 utilizado para a semiquantificação da amostra #IB13.

Nome	Grupo	1t_R	2t_R	Quant mass
<i>nC17</i>	<i>n</i> -alcanos (não ramificados)	570	1,160	183
<i>nC18</i>	<i>n</i> -alcanos (não ramificados)	666	1,290	183
Pristano	alcanos ramificados	600	1,190	183
Fitano	alcanos ramificados	690	1,280	183

APÊNDICE B: PRODUÇÕES CIENTÍFICAS

- Trabalhos apresentados

Flavia Rodrigues Alvares, Gleicielle Tozzi Wurzler, Gabriela Vanini Costa.

“Geoquímica Forense Molecular: especiação de óleos brasileiros no setor petrolífero e em crimes ambientais”. Em: **44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – Virtual**, 2021, Online, Brasil.

Flavia Rodrigues Alvares, Gleicielle Tozzi Wurzler, Thamara Andrade Barra, Francisco Radler de Aquino Neto, Gabriela Vanini Costa. “Geoquímica Forense Molecular: especiação de óleos brasileiros no setor petrolífero e em crimes ambientais”. Em: **11ª Semana de Integração Acadêmica da UFRJ**, 2021, Online, Brasil.

Flavia Rodrigues Alvares, Gleicielle Tozzi Wurzler, Francisco Radler de Aquino Neto, Gabriela Vanini Costa. “Geoquímica Forense Molecular: especiação de óleos brasileiros no setor petrolífero e em crimes ambientais”. Em: **Reunião Anual de Avaliação – 2021/PRH – Finep**, 2022, Online, Brasil.

Flavia Rodrigues Alvares, Gleicielle Tozzi Wurzler, Gabriela Vanini Costa.

“Geoquímica Forense Molecular: especiação de óleos brasileiros no setor petrolífero e em crimes ambientais”. Em: **45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2022, Maceió, Brasil.