

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS MATEMÁTICAS E DA NATUREZA
INSTITUTO DE QUÍMICA

GEOVANA DE MOURA COCCARO

AVALIAÇÃO GEOQUÍMICA MOLECULAR DE PETRÓLEOS BRASILEIROS
APLICADA NO SETOR PETROLÍFERO E EM ESTUDOS FORENSES

Rio de Janeiro

2023

Geovana de Moura Cocco

**AVALIAÇÃO GEOQUÍMICA MOLECULAR DE PETRÓLEOS BRASILEIROS
APLICADA NO SETOR PETROLÍFERO E EM ESTUDOS FORENSES**

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.

Orientadora: Dr^a. Gabriela Vanini Costa

Rio de Janeiro

2023

CIP - Catalogação na Publicação

C659a Coccaro , Geovana de Moura
 Avaliação geoquímica molecular de petróleos
brasileiros aplicada no setor petrolífero e em
estudos forenses / Geovana de Moura Coccaro . --
Rio de Janeiro, 2023.
 96 f.

 Orientadora: Gabriela Vanini Costa.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Química, Bacharel em Química, 2023.

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

Geovana de Moura Coccaro

**AVALIAÇÃO GEOQUÍMICA MOLECULAR DE PETRÓLEOS BRASILEIROS
APLICADA NO SETOR PETROLÍFERO E EM ESTUDOS FORENSES**

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 Química.

Aprovada por:

Gabriela Vanini Costa

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

Márcia Nogueira da Silva de la Cruz

Prof^a. Dr^a. Márcia Nogueira da Silva de la Cruz (IQ/UFRJ)

Dayane Magalhães Coutinho

Dr^a. Dayane Magalhães Coutinho (UFRJ)

Rio de Janeiro

2023

Esse trabalho é dedicado à minha mãe, Maria do Socorro (*in memoriam*), a minha melhor amiga que sempre sonhou com a minha formação e amaria ver esse trabalho final.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Julio Cesar Coccaro e Maria do Socorro de Moura Coccaro (*in memoriam*), que sempre estiveram ao meu lado. Por todo apoio, carinho, paciência, auxílio, compreensão nos meus momentos mais difíceis e por toda confiança depositada.

À minha irmã, Maria Eduarda de Moura Coccaro, por sempre me ajudar e principalmente pelos momentos de descontração.

À toda minha família, em especial, a minha tia Rita de Cássia Coccaro, por todo auxílio e incentivo para correr atrás dos meus objetivos

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Gabriela Vanini Costa, por me ajudar nas minhas maiores dificuldades, pela paciência, por sempre incentivar a me desenvolver na minha formação e por aceitar me orientar nesse trabalho.

Aos meus amigos, por sempre estarem ao meu lado me dando apoio e força para continuar.

Ao meu companheiro, Carlos Augusto Magalhães, por todo amor, incentivo, companheirismo, confiança e sempre acreditar o quanto sou capaz.

As equipes do NAF e LAGOA, por toda ajuda necessária para execução desse trabalho. Em especial, à Gleicielle Wurzler, por todo o suporte, incentivo e aprendizado.

À Prof^a. Dr^a. Márcia Nogueira e Dr^a. Dayane Coutinho por aceitarem o convite para participar da minha banca avaliadora e contribuírem com seus comentários para melhoria desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ, pelo suporte financeiro. Ao IBAMA pelo acordo de colaboração.

Aos professores, técnicos e funcionários do Instituto de Química, por contribuírem para minha formação com seus ensinamentos.

RESUMO

COCCARO, Geovana de Moura. **Avaliação geoquímica molecular de petróleos brasileiros aplicada no setor petrolífero e em estudos forenses.** Rio de Janeiro, 2023. TCC (Graduação em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

O petróleo é considerado uma mistura complexa pois apresenta milhares de constituintes e, entre estes, estão os biomarcadores, que são moléculas que carregam informações sobre a origem, condições geológicas e história térmica dos óleos brutos. O presente trabalho consiste em avaliar os biomarcadores geoquímicos presentes em amostras de petróleo bruto e em uma amostra de derramamento no litoral brasileiro em 2019. Utilizou-se técnicas analíticas avançadas como 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. As análises através destas técnicas permitiram monitorar e classificar as substâncias presentes em óleos com diferentes valores de °API facilitando a otimização dos procedimentos analíticos existentes, com potencial aplicação em estudos geoquímicos forenses em acidentes ambientais. Sendo assim, a análise por GC×GC-TOFMS foi possível identificar entre 17 a 28 biomarcadores nas diferentes amostras de petróleo, como o pristano (Pr), fitano (Fi), hopanos, terpanos tricíclicos e gamacerano. Tendo como base as áreas obtidas de cada biomarcador, foi possível estabelecer uma relação dos parâmetros geoquímicos. Sendo as razões Pr/nC_{17} e Fi/nC_{18} utilizadas para avaliar o grau de biodegradação do óleo. Enquanto, a análise por ESI(±)-Orbitrap-HRMS apresentou o número de substâncias detectadas por HRMS e um perfil de distribuição de classes das substâncias contendo heteroátomos (NOS) das oito amostras nos modos positivo e negativo. Essas análises foram realizadas tanto nas amostras de petróleo bruto quanto para a fração dos polares, onde em cada modo foi apresentado um perfil de substâncias diferentes para cada tipo de amostra. Além disso, com o método quimiométrico foi possível indicar a tendência do °API e a origem da amostra disponibilizada pelo IBAMA, sugerindo uma semelhança com a amostra de °API intermediário 29,0°.

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

ABSTRACT

COCCARO, Geovana de Moura. **Avaliação geoquímica molecular de petróleos brasileiros aplicada no setor petrolífero e em estudos forenses.** Rio de Janeiro, 2023. TCC (Graduação em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Petroleum is considered a complex mixture that has thousands of constituents and, among these, are biomarkers, which are molecules that carry information about the origin, geological conditions, and thermal history of crude oils. The present work consists of evaluating the geochemical biomarkers present in crude oil samples and in a spill sample on the Brazilian coast in 2019. Advanced analytical techniques were used, such as comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOFMS) and high-resolution mass spectrometry of the Orbitrap-HRMS type, combined with chemometric methods. Analyzes using these techniques allowed the monitoring and classification of substances present in oils with different °API values, facilitating the optimization of existing analytical procedures, with potential application in forensic geochemical studies in environmental accidents. Therefore, the GC×GC-TOFMS analysis made it possible to identify between 17 and 28 biomarkers in the different oil samples, such as pristane (Pr), phytane (Ph), hopanes, tricyclic terpanes and gamacerane. Based on the areas obtained from each biomarker, it was possible to establish a relationship between the geochemical parameters. The Pr/nC_{17} and Ph/nC_{18} ratios were used to assess the degree of biodegradation of the oil. Meanwhile, the analysis by ESI(±)-Orbitrap-HRMS showed the number of substances detected by HRMS and a class distribution profile of substances containing heteroatoms (NOS) from the eight samples in positive and negative modes. These analyzes were performed both on crude oil samples and on the polar fraction, where in each mode a profile of different substances was presented for each type of sample. Furthermore, with the chemometric method it was possible to indicate the tendency of the °API and the origin of the sample made available by IBAMA, suggesting a similarity with the sample of °API intermediate 29.0°.

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

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Transformação termoquímica da matéria orgânica e geração do petróleo (THOMAS, 2001)	20
Figura 2. Correlação entre a quantidade de reservas mundiais de petróleo e a produção mundial (Fonte: Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás, 2021)	21
Figura 3. Média de produção diária de petróleo no Brasil (Adaptado de: ANP, 2022)	22
Figura 4. Média de incidentes com descarga de óleo cru e óleo diesel de 2012 a 2020 (Fonte: ANP, 2021)	23
Figura 5. Estrutura molecular do <i>n</i> -alcano C ₁₅ H ₃₂ e o seu respectivo íon característico <i>m/z</i> 85)	26
Figura 6. Estruturas moleculares do fitol e dos isoprenóides pristano e fitano.....	26
Figura 7. Estrutura genérica do terpano tricíclico, onde a letra R corresponde a um radical alquila.....	28
Figura 8. Origem dos hopanos derivados do bacteriohopanotetrol.....	29
Figura 9. Estrutura do gamacerano (biomarcador de ambientes hipersalinos)	29
Figura 10. Estruturas do 18 α (H)-22,29,30 Trisnorneohopano (Ts) e do 17 α (H)-22,29,30 Trisnorhopano (Tm).....	30
Figura 11. Esquema representativo de um sistema GC \times GC composto por um modulador criogênico de quatro jatos e duplo estágio, onde ¹ D, coluna cromatográfica da primeira dimensão e ² D, coluna cromatográfica da segunda dimensão. Adaptado de COUTINHO (2017)	35
Figura 12. Formação e visualização de um cromatograma bidimensional. Adaptado de DALLUGE <i>et al.</i> , 2003.	36
Figura 13. Ilustração esquemática de uma fonte de ionização por ESI (VANINI <i>et al.</i> , 2018)	37
Figura 14. Gráfico de DBE versus número de carbono de uma amostra de petróleo por espectrometria de massas utilizando o programa Composer.....	38
Figura 15. 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)	39

Figura 16. Fracionamento do petróleo por cromatografia líquida em coluna.....	45
Figura 17. Esquema experimental das análises realizadas para a caracterização de amostras de petróleo.....	51
Figura 18. Gráfico com os percentuais das frações de cada amostra e sua recuperação.....	53
Figura 19. EIC para m/z 66, 192, 212, 223, com a identificação dos padrões internos deuterados no plano cromatográfico.....	56
Figura 20. TIC das amostras de petróleo bruto obtido por GC×GC-TOFMS.....	57
Figura 21. EIC m/z 57+183 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC×GC-TOFMS.....	59
Figura 22. EIC m/z 191 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC×GC-TOFMS, e seus respectivos biomarcadores identificados.....	60
Figura 23. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de $n\text{C}_{15}$, $n\text{C}_{16}$, $n\text{C}_{17}$, $n\text{C}_{18}$, Pr e Fi encontrados nas amostras de petróleo.....	64
Figura 24. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$), de 17-nor-terpanos tricíclicos encontrados nas amostras de petróleo.....	65
Figura 25. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de 17 α (H),21 β (H)-hopanos encontrados nas amostras de petróleo.....	66
Figura 26. Espectros de massas de amostras de petróleo bruto e fração de polares obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.....	72
Figura 27. Espectros de massas de amostras de petróleo bruto e fração de polares obtidos por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.....	73
Figura 28. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.....	75
Figura 29. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.....	77
Figura 30. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias nitrogenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.....	79
Figura 31. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias oxigenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.....	80

Figura 32. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias nitrogenadas presentes nas frações dos polares de cada amostra, obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.....	81
Figura 33. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias oxigenadas presentes nas frações dos polares de cada amostra, obtidos por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.....	82
Figura 34. Gráfico de PC versus a proporção da variação para PC ₁ , PC ₂ e PC ₃ parâmetros geoquímicos das amostras de petróleo.....	83
Figura 35. (A) Gráfico relacionando os dez parâmetros geoquímicos para todas as amostras de petróleo em uma colocação circular. (B) Gráfico relacionando os dez parâmetros geoquímicos pela análise do componente principal.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição elementar média do petróleo. (Adaptado de: SPEIGHT, 2001)	17
Tabela 2. Composição química de um petróleo típico e suas respectivas estruturas químicas (Adaptado de: THOMAS, 2001)	18
Tabela 3. Classificação do petróleo segundo a escala de °API (Fonte: GUIMARÃES, 2004)	19
Tabela 4. Principais biomarcadores estudados em geoquímica forense, estruturas químicas e informações (Adaptado de: SILVA, 2007)	31
Tabela 5. Relação de parâmetros geoquímicos utilizados para obter informações sobre a origem, maturidade térmica e biodegradação do petróleo.....	33
Tabela 6. Relação de amostras de óleo bruto selecionadas e os valores de °API correspondentes	42
Tabela 7. 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 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	43
Tabela 8. Parâmetros cromatográficos para análise da fração de hidrocarbonetos saturados cíclicos e ramificados do petróleo por GC×GC-TOFMS.....	48
Tabela 9. Tabela com as massas (mg) de cada amostra e a massa de suas respectivas frações recuperadas.....	52
Tabela 10. Percentual das frações de cada amostra e sua recuperação.....	53
Tabela 11. Massa das frações de hidrocarbonetos cíclicos mais ramificados e lineares após o aduto de ureia e as relações com as massas da fração de saturados e da amostra total.....	55
Tabela 12. Concentrações ($\mu\text{g mg}^{-1}$) dos analitos identificados nas frações (C+R) das amostras de petróleo analisadas por GC×GC-TOFMS.....	62
Tabela 13. Parâmetros geoquímicos calculados para cada amostra de petróleo.....	67
Tabela 14. Relação de parâmetros geoquímicos utilizados para obter informações sobre a origem, maturidade térmica e biodegradação do petróleo de cada amostra analisada.....	74

Tabela 15. Número de substâncias detectadas nas amostras de petróleo bruto pela técnica de ESI(±)-Orbitrap-HRMS utilizando o programa <i>XCalibur</i>	69
Tabela 16. Distribuição da classe dos nitrogenados N [H] para as amostras de petróleo bruto e fração dos polares.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP - Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

API - *American Petroleum Institute*

ARO - Hidrocarbonetos aromáticos

EIC - Cromatograma de íons extraídos (do inglês *Extracted Ion Chromatogram*)

TIC - Cromatograma de íons totais (do inglês *Total Ion Chromatogram*)

CNP - Conselho Nacional do Petróleo

CTEOLEO - Comissão Temporária Externa Para Acompanhar As Ações De Enfrentamento Às Manchas De Óleo No Litoral Brasileiro

C+R - Hidrocarbonetos de cadeias cíclicas e ramificadas

¹D - primeira dimensão

²D - segunda dimensão

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

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

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*)

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

IBP - Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás

NIST - *National Institute of Standards & Technology*

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

POL - Substâncias polares

SAT - Hidrocarbonetos saturados

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Petróleo.....	16
1.2. Geoquímica forense e os biomarcadores no petróleo.....	24
1.2.1. Hidrocarbonetos lineares.....	25
1.2.2. Isoprenóides.....	26
1.2.3. Terpanos tricíclicos.....	27
1.2.4. Terpanos pentacíclicos (Hopanos)	28
1.2.5. Parâmetros geoquímicos.....	32
1.3. Técnicas analíticas de detecção e identificação dos analitos do petróleo....	34
1.3.1. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS)	34
1.3.2. Espectrometria de Massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS)	36
1.4. Quimiometria.....	38
2. OBJETIVOS	41
2.1. Objetivo geral	41
2.2. Objetivo específico	41
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	42
3.1. Amostras.....	42
3.2. Material.....	42
3.3. Padrões.....	43
3.4. Preparo de amostras	44
3.4.1. Fracionamento em cromatografia líquida.....	44
3.4.2. Isolamento das frações de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados de frações hidrocarbonetos saturados (SAT) por aduto de uréia.....	45
3.4.3. Preparo das frações de cíclicos e ramificados para análise por GC×GC-TOFMS.....	46
3.4.4. Preparo das amostras para análise por Orbitrap-HRMS.....	47
3.5. Instrumentação analítica.....	47
3.5.1. GC×GC-TOFMS.....	47
3.5.1.1. Cálculos da análise semiquantitativa.....	49
3.5.2. Orbitrap-HRMS.....	49
3.5.3. Análise Quimiométrica.....	50

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1. Distribuição das classes químicas por cromatografia líquida	52
4.2. GC×GC-TOFMS: Análise qualitativa.....	55
4.3. GC×GC-TOFMS: Análise semiquantitativa.....	61
4.4. GC×GC-TOFMS: Parâmetros Geoquímicos.....	66
4.5. ESI (±)-Orbitrap-HRMS.....	70
4.5.1. Petróleo Bruto e Frações dos Polares.....	70
4.6. Estudo quimiométrico dos dados por GC×GC-TOFMS.....	83
5. CONCLUSÃO	86
6. REFERÊNCIAS	88
APÊNDICE A: Produções Científicas	95
APÊNDICE B: Projeções Futuras	96

1. INTRODUÇÃO

1.1. Petróleo

O petróleo é considerado uma matriz de grande complexidade e, por apresentar milhares de constituintes, é uma das matérias-primas mais desafiadoras para análises químicas (VANINI *et al.*, 2018). Com a necessidade e consequente aumento da demanda por recursos naturais como o petróleo, as pesquisas envolvendo as etapas de exploração, refino, transporte e uso de derivados estão ganhando cada vez mais destaque. Devido a esse fato, é importante ressaltar o aumento nos casos de crimes ambientais como, por exemplo, derramamento de óleo e adulteração de combustíveis. Por conta das classes químicas presentes no petróleo com diferentes características de volatilidade, polaridade e concentração, há um desafio maior nas análises químicas envolvendo os estudos forenses.

O petróleo é formado a partir da matéria orgânica depositada em bacias sedimentares ao longo do tempo geológico (SCHMIDT, 2015). Sendo assim, do ponto de vista composicional, o petróleo pode ser definido como uma mistura de compostos orgânicos com predominância de carbono e hidrogênio, que constitui uma grande variedade de hidrocarbonetos. Contendo também os compostos heteroatômicos, que são moléculas polares como o nitrogênio, enxofre e oxigênio (N, S, O, respectivamente). Além disso, no petróleo há constituintes metálicos presentes em quantidades traço, dentre eles, o níquel (Ni) e o vanádio (V) em concentrações predominantes em relação ao ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e chumbo (Pb) (WANG e FINGAS, 2003). A composição elementar média do petróleo é apresentada na **Tabela 1**.

Tabela 1. Composição elementar média do petróleo.

Elemento	Porcentagem em massa (%)
Carbono	83,0 a 87,0
Hidrogênio	11,0 a 14,0
Enxofre	0,06 a 8,0
Nitrogênio	0,1 a 1,7
Oxigênio	0,5
Metais (Fe, Ni, V, etc)	0,3

Adaptado de: SPEIGHT, 2001

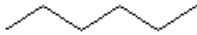

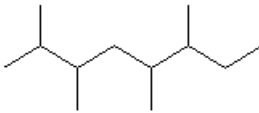

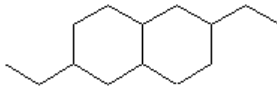
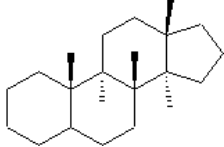
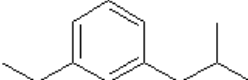
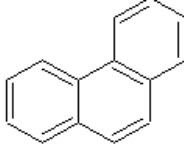
As substâncias presentes no petróleo também podem ser classificadas em função da sua composição, expressa em termos de proporção de hidrocarbonetos saturados, aromáticos e compostos polares (SPEIGHT, 2001). Os hidrocarbonetos presentes no petróleo são classificados em parafínicos, naftênicos e aromáticos. Os parafínicos são moléculas saturadas que possuem cadeia linear ou ramificada. Já os naftênicos são saturados e contém um ou mais anéis não aromáticos, e cada um dos anéis pode apresentar cadeias parafínicas. Enquanto os aromáticos contém no mínimo um anel, como benzeno e fenantreno, os quais podem estar ligados a anéis naftênicos e cadeias parafínicas. A relação entre a massa molar e os hidrocarbonetos parafínicos presentes no petróleo é inversamente proporcional. Sendo assim, quanto maior a massa molar e o ponto de ebulição do petróleo, menor será a quantidade de hidrocarbonetos parafínicos presente em sua composição (PEREIRA *et al.*, 2013). Por conseguinte, a relação entre os hidrocarbonetos naftênicos e a massa molecular do petróleo é diretamente proporcional. Logo, quanto maior for a massa molar, maior será a quantidade de hidrocarbonetos naftênicos presentes em sua constituição. Os hidrocarbonetos aromáticos contém anéis aromáticos fundidos e podem conter radicais alquilas de cadeias parafínicas (acíclicos) e/ou anéis naftênicos (cíclicos). Estes compostos podem ser encontrados em frações de petróleo com baixa massa molar e ponto de ebulição. Os compostos polares são constituídos por espécies contendo N, S e O com sistemas aromáticos e naftênicos e estão majoritariamente em frações com alto ponto de ebulição, asfálticas, aromáticas e resinas.

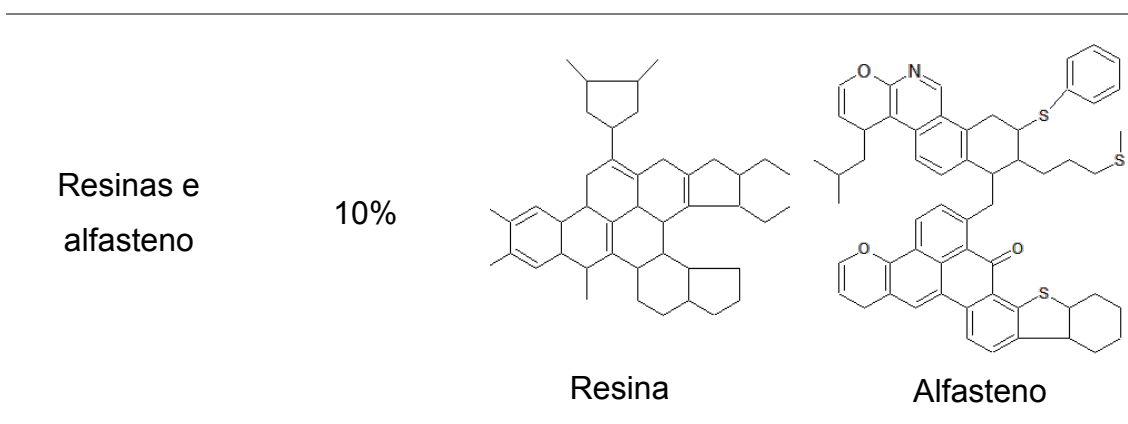
Os diferentes tipos de reservatórios produzem óleos com propriedades físico-químicas distintas. Sendo assim, as características dos óleos estão diretamente relacionadas com o reservatório de origem, sejam elas referentes à cor, odor, viscosidade, densidade, entre outras. (COUTINHO *et al.*, 2018; VANINI *et al.*, 2018). O Instituto Americano de petróleo (API – do inglês, *American Petroleum Institute*) criou a escala °API que expressa a densidade do óleo por meio de um índice adimensional, a fim de uniformizar e facilitar a classificação e descrição de diferentes óleos. A escala °API é inversamente proporcional à densidade, como é visto na **Equação 1**, e as classificações geradas ajudam a traçar o perfil do petróleo, uma vez que os petróleos do pré- e pós-sal apresentam características físico-químicas diferentes.

$$^{\circ}\text{API} = \frac{141,5}{d} - 131,5 \quad \text{Equação 1}$$

Na **Tabela 2** é possível observar a composição química do petróleo com as suas respectivas estruturas.

Tabela 2. Composição química de um petróleo típico e suas respectivas estruturas químicas.

Componentes	Composição (%)	Exemplos de estruturas químicas	
Parafinas normais	14%		
Parafinas ramificadas	16%		
Parafinas cíclicas (naftênicas)	30%		
Aromáticas	30%		



Adaptado de: THOMAS, 2001

Na **Tabela 3** encontram-se os valores de °API definidos pelo setor de abastecimento da Petrobras para classificação dos petróleos.

Tabela 3. Classificação do petróleo segundo a escala de °API

Petróleo	°API	Densidade 20/40°C
Extra-Leve	> 40,0	< 0,821
Leve	40,0 – 33,0	0,821 – 0,857
Médio	33,0 – 27,0	0,857 – 0,889
Pesado	27,0 – 19,0	0,889 – 0,937
Extra-Pesado	19,0 – 15,0	0,937 – 0,962
Asfáltico	< 15,0	> 0,962

Fonte: GUIMARÃES, 2004

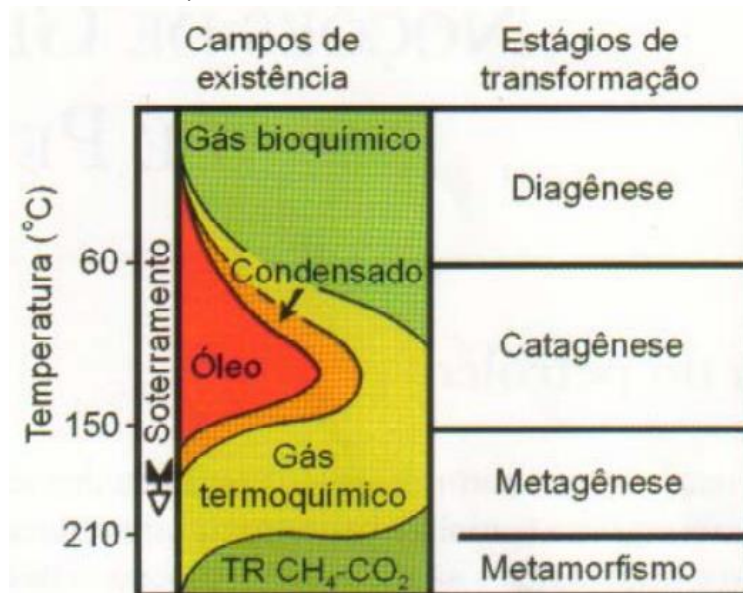
Das muitas teorias sobre o surgimento do petróleo, a mais disseminada diz que ele se formou a partir da decomposição de matéria orgânica, principalmente de algas e microrganismos que formam o fitoplâncton. Esta decomposição é proveniente da pouca oxigenação e pela ação das bactérias até a obtenção do óleo cru. Em um ambiente apropriado, após a incorporação da matéria orgânica ao sedimento, ocorre um aumento da pressão e temperatura, começando o seguinte processo evolutivo:

1. Diagenese ($T < 65\text{ °C}$): predomina a atividade bacteriana provocando a reorganização celular e a transformação da matéria orgânica de rochas sedimentares em querogênio - gás metano de origem biogênica;
2. Catagenese ($65 < T < 165\text{ °C}$): definido pela quebra das moléculas de querogênio, resultando na geração de hidrocarbonetos líquidos e gás;

3. Metagênese ($165 < T < 210$ °C): propicia a quebra das moléculas de hidrocarbonetos líquidos e sua transformação em gás leve;
4. Metamorfismo ($T > 210$ °C): a continuação do aumento da temperatura leva a degradação do hidrocarboneto gerado, gerando grafite, gás carbônico e algum resíduo de gás metano.

Essas etapas definidas por THOMAS (2001), podem ser visualizadas com mais clareza na **Figura 1**.

Figura 1. Transformação termoquímica da matéria orgânica e geração do petróleo (THOMAS, 2001).

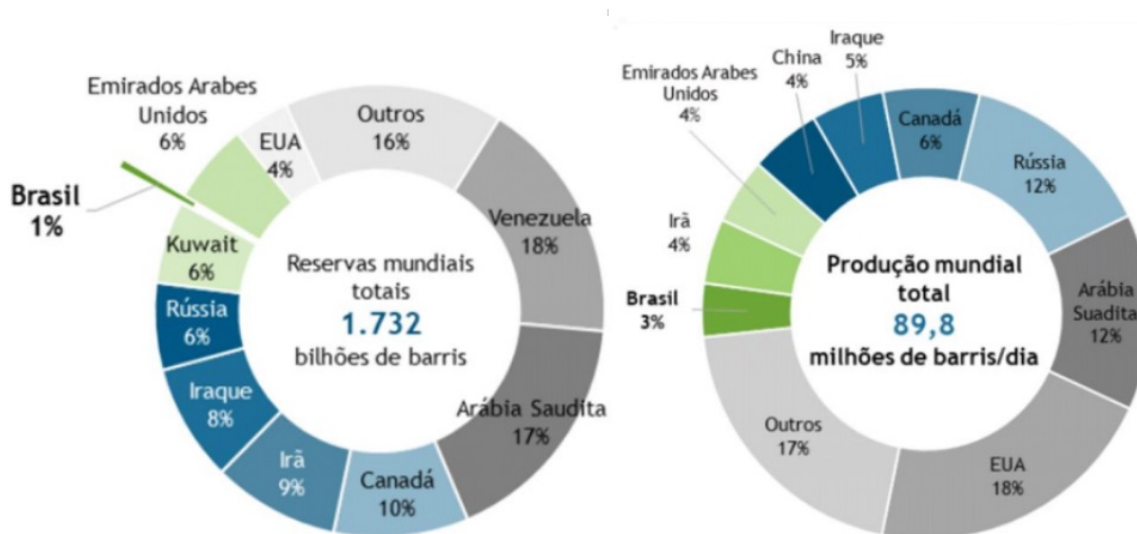


A distribuição geográfica dos reservatórios de petróleo no mundo não é uniforme, e países normalmente cobertos por deserto ou por selvas e extremamente pobres em riquezas naturais superficiais, concentram a maioria das reservas petrolíferas do planeta, como, por exemplo, o Oriente Médio. Já os países situados em climas temperados, possuem uma fração muito pequena do petróleo mundial (MILANI *et al.*, 2000). Por conta disso, de 1985 para os dias atuais, tem ocorrido uma acelerada busca pelas riquezas petrolíferas situadas em águas profundas, estimulada pelos contínuos aumentos do preço do petróleo no mercado internacional, devido o decréscimo das reservas e produções em larga escala. Desse modo, a indústria petrolífera liderada pela Petrobras, motivada pelos baixos custos de descoberta destes grandes volumes de petróleo

offshore profundo e pela grande produtividade, investiu em pesquisas e desenvolvimento tecnológico em busca desse petróleo em águas profundas. Foi encontrada pela Petrobras cerca de 12 bilhões de barris de reservas na Bacia de Campos e em 2007 foi descoberto o primeiro reservatório na camada de pré-sal no campo de Tupi, bacia sedimentar brasileira (MILANI *et al.*, 2000; AZEVEDO FILHO, PERESTRELO e MOLINA-PALMA, 2016).

Segundo o Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás (IBP), em 2020 as reservas mundiais de petróleo atingiram a marca de 1,732 trilhão de barris, sendo as maiores reservas proveniente da Venezuela (18%) e Arábia Saudita (17%). A **Figura 2** mostra uma correlação entre as reservas mundiais de petróleo com a produção mundial total de barril por dia.

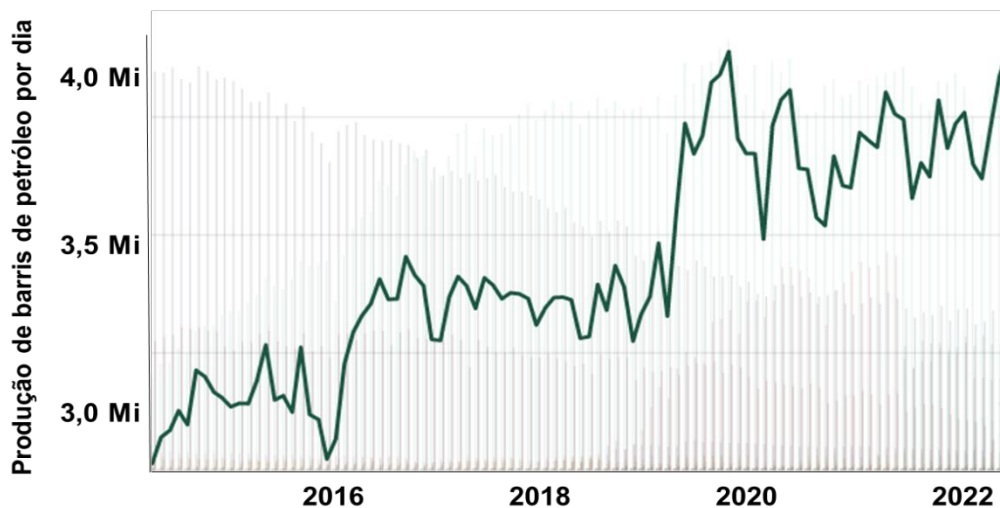
Figura 2. Correlação entre a quantidade de reservas mundiais de petróleo e a produção mundial (Fonte: Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás, 2021).



A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) divulgou dados consolidados da produção nacional de petróleo no mês de maio de 2022. Onde foram produzidos no pré-sal um volume de 2,835 milhões de barris de óleo equivalente por dia, sendo 2,239 milhões de barris de petróleo por dia e 94,7 milhões de metros cúbicos de gás natural por dia, o que corresponde a 76,5% da produção nacional. O °API médio do petróleo extraído no Brasil foi de 28,3, sendo 2,2% da produção considerada óleo leve, 93,5% óleo médio e 4,3% óleo pesado. A produção diária brasileira nos últimos anos teve um crescimento considerado, é possível observar na **Figura 3** essa evolução, no

qual em 2016 a produção era de 2,83 milhões de barris e em 2022 a produção atingiu 4,05 milhões de barris.

Figura 3. Média de produção diária de petróleo no Brasil (Adaptado de: ANP, 2022).



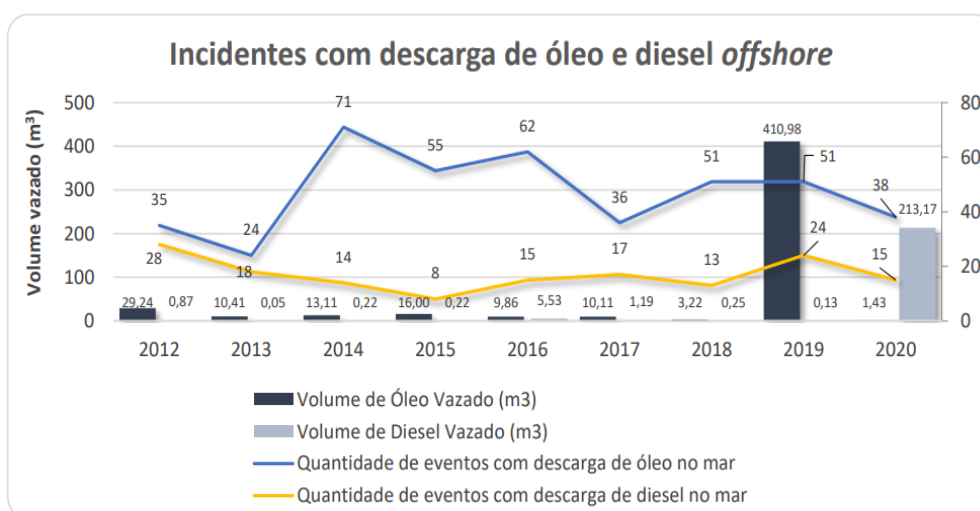
Com a necessidade e conseqüente aumento da demanda por recursos naturais como o petróleo, as pesquisas envolvendo as etapas de exploração, refino, transporte e uso de derivados estão ganhando cada vez mais destaque. Devido a esse fato, é importante ressaltar o aumento nos casos de crimes ambientais como, por exemplo, derramamento de óleo.

Os derramamentos de petróleo causam sérios prejuízos aos mares, oceanos e manguezais. Em 2019 foram registradas aproximadamente 1.000 toneladas de petróleo derramado para o meio ambiente no mundo (ITOPF, 2020). Alguns exemplos atuais no Brasil são o incidente com petróleo nas praias do nordeste brasileiro em 2019 (SALES e GITEL, 2019, Eco Nordeste) e agora em 2021 nas praias do Parque Nacional Marinho de Fernando de Noronha (MARINHO, 2021, ICMBio – G1/PE). O **Figura 4** apresenta a quantidade de eventos e o volume carregado no mar no Brasil, tanto de óleo cru quanto de óleo diesel, de 2012 a 2020.

Um dos maiores desastres que ocorreu no território brasileiro foi oficialmente identificado em 30 de agosto de 2019, um derramamento de petróleo ou óleo bruto atingiu a costa brasileira e alcançou a faixa litorânea de 4.334 km em 11 estados do Nordeste e Sudeste, 120 municípios e 724 localidades até 22 de

novembro de 2019 (IBAMA, 2019). Esse desastre é considerado um dos maiores de derramamento de óleo bruto da história de país, cerca de 5.000 toneladas de petróleo, e um dos mais extensos registrados no mundo. As praias, animais e ecossistema marinho foram afetados por esse desastre, além de gerar problemas para a população que vive do turismo e se alimenta de frutos do mar pescados nos locais afetados.

Figura 4. Média de incidentes com descarga de óleo cru e óleo diesel de 2012 a 2020 (Fonte: ANP, 2021).



Os riscos e impactos da presença de petróleo derramado são difíceis de medir com precisão e as análises de risco subestimam os agravos, os quais podem perdurar por décadas. Os mais afetados com esse incidente são os moradores dessas localidades atingidas e também os voluntários que fizeram parte das limpezas das praias, já que não obtiveram orientação adequada a tempo, logo não usaram nenhum equipamento de proteção. O não uso de equipamentos de proteção gerou alguns problemas para essas pessoas, como casos de dermatite na pele devido ao contato com compostos sulfurados e nitrogenados presentes no petróleo, além da inalação de substâncias carcinogênicas, como benzeno e tolueno (PENA *et al.*, 2020).

A investigação para descobrir a origem do óleo, a causa do derramamento e analisar a ação de indenização levou à criação da Comissão Parlamentar de Inquérito (CPI), e esta relatou na Câmara dos Deputados, que apenas em uma

praia – Itapuama, em Pernambuco – foram recolhidas aproximadamente 1 mil toneladas de óleo em apenas uma semana (GALVÃO, 2019). Porém, a origem do óleo ainda é ignorada, no entanto, análises independentes da Petrobras e da Universidade Federal da Bahia (UFBA) concluíram que o petróleo que atingiu a costa brasileira não é explorado ou produzido no Brasil e que há correlação com petróleos produzidos na Venezuela. De qualquer forma, mesmo que esta hipótese fosse confirmada, ela configuraria em prova material de autoria (CTEOLEO, 2022).

A CTEOLEO (Comissão Temporária Externa Para Acompanhar As Ações De Enfrentamento Às Manchas De Óleo No Litoral Brasileiro) relatou as propriedades físico-químicas do petróleo que chegou ao litoral nordestino, este pode ser considerado um óleo pesado e altamente intemperizado (que passou por diversos processos químicos, físicos e biológicos ao longo do tempo), tendo como principais propriedades: alta viscosidade, alta densidade e concentrações baixas de compostos voláteis.

1.2. Geoquímica forense e os biomarcadores no petróleo

A geoquímica orgânica é uma ferramenta relativamente recente, desenvolvida no início da década de 70, que utiliza os princípios da química para o estudo da origem, migração, acumulação, exploração e produção do petróleo (óleo ou gás), assim como no apoio à resolução de problemas de contaminação e de poluições ambientais (HUNT, 1995). A geoquímica orgânica pode ser dividida em geoquímica orgânica não-molecular, que caracteriza a fração de querogênio das rochas sedimentares e a molecular, que se restringe à fração betume (solúvel em solventes orgânicos), através da análise dos biomarcadores (PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005). Desse modo, a geoquímica orgânica auxilia em estudos para crimes ambientais, uma vez que a preservação da matéria orgânica nos sedimentos fornece um registro molecular dos processos biológicos em diferentes ambientes sedimentares por meio da identificação de biomarcadores.

Os biomarcadores ou marcadores biológicos são compostos provenientes dos seres vivos que deram origem ao petróleo. Por conta disso, eles são um dos mais importantes grupos de carbono presentes no petróleo. Esses encontrados

em óleos brutos, rochas e sedimentos são estáveis e mostram poucos ou nenhuma mudança nas estruturas de suas moléculas orgânicas originais presentes em organismos vivos (WANG *et al.*, 2006). Portanto, os biomarcadores carregam informações sobre a natureza, origem, tipo, condições geológicas e história térmica desses organismos, ou seja, uma impressão digital química.

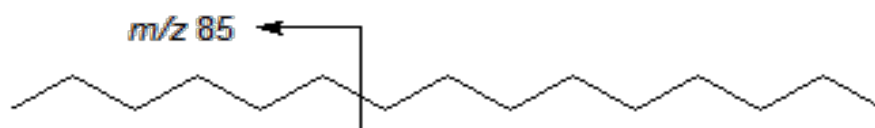
A análise química de biomarcadores fornece informações relevantes nas investigações forenses ambientais. Podem ser detectados em baixas quantidades (mg L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$) na presença de uma grande variedade de outros tipos de hidrocarbonetos de petróleo pelo uso da cromatografia gasosa com a espectrometria de massas. Além disso, os biomarcadores, formados sob diferentes condições geológicas e idades, podem exibir impressões digitais distintas (WANG *et al.*, 2006). Sendo assim, essa análise pode ser utilizada para estabelecer importantes relações como: interpretação do paleoambiente deposicional, grau de maturação térmica da matéria orgânica e grau de degradação.

Existem diversas classes de biomarcadores, onde os hidrocarbonetos que são caracterizados como os melhores marcadores biológicos são aqueles que possuem esqueleto esteróide, terpenóide e isoprenóide. Estes podem ser rastreados desde os sedimentos recentes até os antigos, onde progressivamente sofrem degradação térmica e/ou diluição por outros hidrocarbonetos gerados em profundidades maiores (SILVA, 2011). Esses hidrocarbonetos podem ser divididos em: *n*-alcanos, alcanos isoprenóides acíclicos, terpanos tricíclicos, tetracíclicos, pentacíclicos, hopanos e esteranos.

1.2.1. Hidrocarbonetos lineares

Os *n*-alcanos são hidrocarbonetos acíclicos lineares que formam uma série homóloga conforme a fórmula geral $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$ (**Figura 5**). A distribuição dos *n*-alcanos pode ser importante como um parâmetro ambiental, já que eles podem fornecer indícios sobre sua origem biológica, como o grau de evolução térmica das rochas geradoras e o tipo de matéria orgânica.

Figura 5. Estrutura molecular do *n*-alcano C₁₅H₃₂ e o seu respectivo íon característico *m/z* 85)

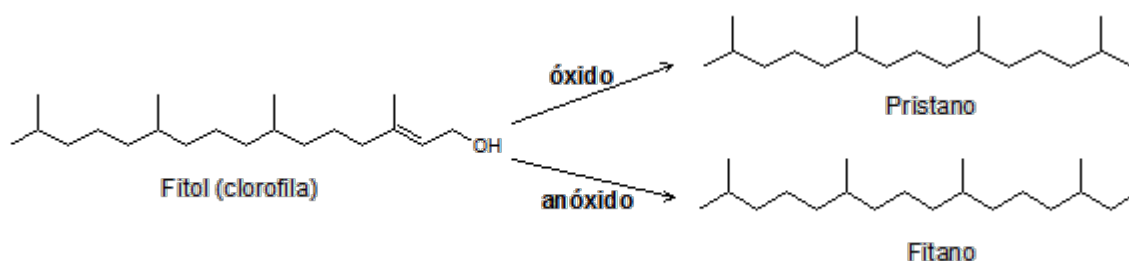


No geral, a distribuição destes varia de componentes de baixa a alta massa molecular, onde os *n*-alcanos com alta massa molecular (C₂₅ a C₃₃) tem origem continental, derivados de plantas terrestres, enquanto os com baixa massa molecular (C₁₂ a C₂₀) tem origem marinha (SILVA, 2007).

1.2.2. Isoprenóides

Os isoprenóides são alcanos ramificados formados a partir da união de várias unidades do isopreno C₅, com um grupo metila localizado a cada quatro átomos de carbono, onde os mais estudados são o pristano (Pr) e o fitano (Fi). Estes são derivados da cadeia lateral fitil da clorofila presente em organismos que realizam o processo de fotossíntese. Sob condições anóxicas, a cadeia lateral fitil é clivada, produzindo o fitol, o qual é reduzido para dihidrofitol e, posteriormente para fitano. Em condições oxidantes o fitol é oxidado a ácido fitênico, descarboxilado a pristeno e então reduzido a pristano (PETERS e MOLDOWAN, 1993). A **Figura 6** é possível visualizar as estruturas químicas dos produtos pristano e fitano.

Figura 6. Estruturas moleculares do fitol e dos isoprenóides pristano e fitano.



A razão pristano/fitano (Pr/Fi) é considerada como o melhor indicador do tipo de paleoambiente deposicional, uma vez que variações na concentração dos

isoprenóides poderiam indicar flutuações do potencial redox dos ambientes, ou seja, para diferenciar ambientes óxidos de anóxidos quando ocorre a decomposição da clorofila. As altas razões indicariam um ambiente oxidante, derivado de matéria orgânica de fontes terrestre, e as baixas, um ambiente mais redutor com matéria orgânica derivada predominantemente de fontes marinhas (KILLOPS *et al.*, 1994).

Pr/Fi > 1: indica óleo ou extrato de ambiente deposicional óxido.

Pr/Fi < 1: indica óleo ou extrato de ambiente deposicional anóxico ou redutor.

Já a relação entre a concentração dos *n*-alcanos nC_{17} e nC_{18} em relação aos isoprenóides pristano (C_{19}) e o fitano (C_{20}), fornece informações importantes em relação ao grau de maturação da matéria orgânica, visto que os processos de craqueamento térmico da matéria orgânica proporcionam um aumento na abundância dos *n*-alcanos (PETERS e MOLDOWAN, 1993).

Pr/ nC_{17} e Fi/ nC_{18} > 1: indicam óleo biodegradado

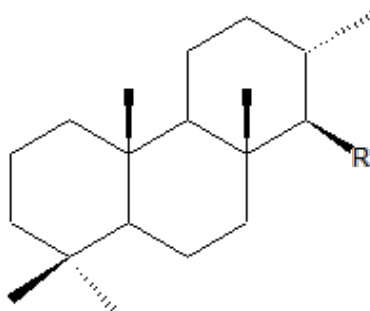
Pr/ nC_{17} e Fi/ nC_{18} < 1: indicam óleo não biodegradado

Quanto maior for as razões Pr/ nC_{17} e Fi/ nC_{18} , maior será a biodegradação, isso porque as bactérias aeróbicas geralmente atacam os *n*-alcanos antes dos isoprenóides. (PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005).

1.2.3. Terpanos tricíclicos

Os terpanos tricíclicos possuem uma série homóloga contendo entre 19 e 45 átomos de carbonos, e sua estrutura pode ser vista na **Figura 7**. Os componentes ocorrem como misturas de diastereoisômeros no C_{22} e C_{26} e nos homólogos superiores.

Figura 7. Estrutura genérica do terpano tricíclico, onde a letra R corresponde a um radical alquila



São originados a partir de membranas procarióticas de bactérias diferentes das que originaram os pentacíclicos e estão presentes em concentrações inferiores aos pentacíclicos (PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005). Segundo VAN GRASS (1990), a razão tricíclico/pentacíclico é um indicativo de maturidade, dado que com o aumento da maturação, há um aumento na concentração dos terpanos tricíclicos, podendo ocorrer a degradação dos pentacíclicos.

1.2.4. Terpanos pentacíclicos (Hopanos)

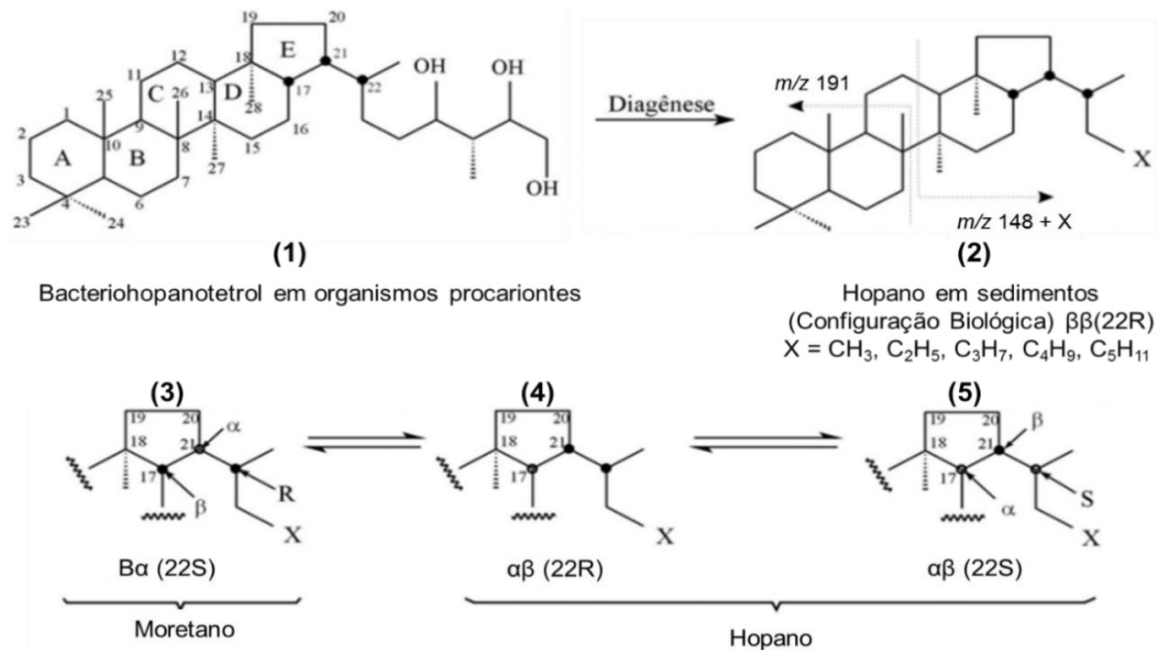
Os compostos denominados hopanos ou terpanos pentacíclicos apresentam 29 até 35 átomos de carbono em uma estrutura composta por 4 cadeias cíclicas de 6 carbonos e 1 cadeia com 5 carbonos. Estes são derivados de reações de redução e desidratação do bacteriohopanotetrol, presente nas membranas celulares de microrganismos, como bactérias e cianobactérias, que ocorrem durante a diagênese (WAPLES, 1991).

Os hopanos apresentam dois importantes íons de fragmentação que facilitam sua identificação. O primeiro íon, m/z 191, é formado pela clivagem do anel C incluindo os anéis A e B da molécula. O segundo fragmento é o íon m/z 148 + R baseado nos anéis D e E (**Figura 8**), onde o R se refere a massa da cadeia lateral R, sendo que a relação m/z do íon dependerá do número de átomos de carbono do radical R (PETERS e MOLDOWAN, 1993).

A origem dos hopanos derivados do bacteriohopanotetrol pode ser vista na **Figura 8**, onde na primeira parte (**1**) é encontrado em membranas lipídicas de organismos procariontes. Após, a configuração biológica [17 β (H), 21 β (H), 22R] do bacteriohopanotetrol e seu produto saturado (**2**) são instáveis na

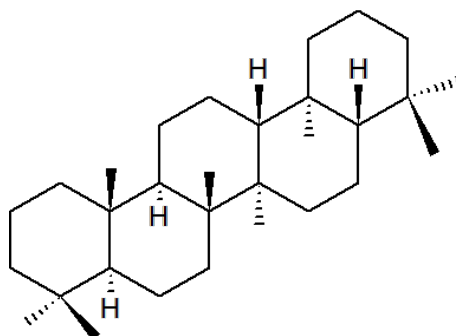
catagênese e submetem-se à isomerização para as configurações geológicas (**3**, **4 e 5**). A configuração $17\beta(H)$, $21\alpha(H)$ é denominada de moretano (**3**) e todos os outros são denominados hopanos (**2, 4 e 5**) (PETERS e MOLDOWAN, 1993).

Figura 8. Origem dos hopanos derivados do bacteriohopanotetrol (PETERS e MOLDOWAN, 1993).



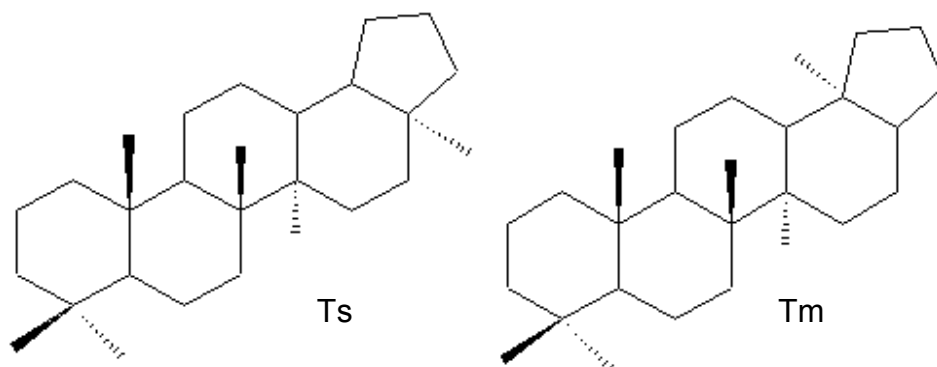
Os hopanóides incluem os hopanos de configuração $17\alpha(H)$, $21\beta(H)$, $17\beta(H)$, $21\beta(H)$, e os de configuração $17\beta(H)$, $21\alpha(H)$, denominados de moretanos. Os não-hopanóides compreendem o gamacerano, onde a sua estrutura química pode ser vista na **Figura 9**, derivado do tetrahimanol (gamacer- 3β -ol), um lipídio que substitui os esteróis na membrana de certos microrganismos (PETERS e MOLDOWAN, 1993), sendo assim um indicativo de ambientes deposicionais hipersalinos marinhos e não marinhos.

Figura 9. Estrutura do gamacerano (biomarcador de ambientes hipersalinos)



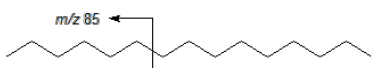
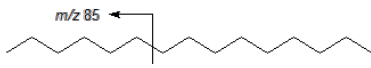


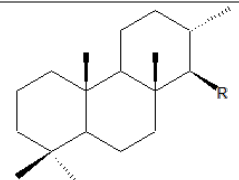
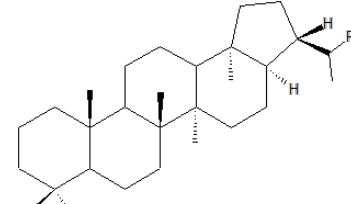
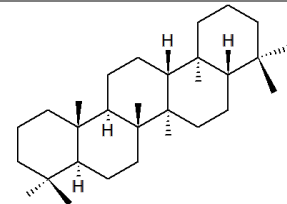
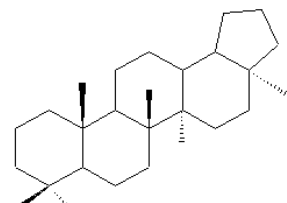
A razão dos isômeros hopanóides C₂₇, Ts (18 α (H)-trisorneohopano) em relação ao Tm (17 α (H)-trisorhopano) também tem sido utilizada para avaliar o grau de maturação da matéria orgânica, uma vez que com o aumento da maturidade, a concentração de Tm cai gradualmente, em relação ao Ts, que aumenta (JONES e PHILP, 1990). Sabe-se também que a razão Ts/(Tm+Ts) é alta para ambientes hipersalinos e que baixas concentrações de Ts/(Tm+Ts), têm sido encontradas em óleos oriundos de rochas carbonáticas (WAPLES, 1991) e que a razão Ts/(Tm+Ts) é mais baixa em sedimentos óxidos que nos anóxidos (VAN GRASS, 1990). A **Figura 10** demonstra as estruturas dos biomarcadores Ts e Tm.

Figura 10. Estruturas do 18 α (H)-22,29,30 Trisorneohopano (Ts) e do 17 α (H)-22,29,30 Trisorhopano (Tm)

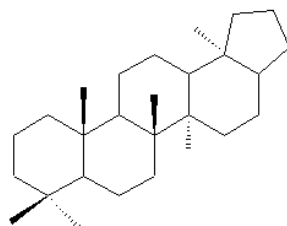


A **Tabela 4** resume as informações que podem ser obtidas a partir do estudo dos biomarcadores em sedimentos.

Tabela 4. Principais biomarcadores estudados em geoquímica forense, estruturas químicas e informações (Adaptado de SILVA, 2007).

Biomarcador	Estrutura	Precursor	Informações
Heptadecano (nC_{17})		Algas marinhas	Origem biológica
Octadecano (nC_{18})		Algas marinhas	Origem biológica
Pristano (Pr)		Organismos fototróficos	Ambiente deposicional
Fitano (Fi)		Organismos fototróficos	Ambiente deposicional
Terpanos Tricíclicos (Tr_n)		Organismos procariontes	Grau de maturação
17α(H),21β(H)-hopanos (H_n)		Organismos procariontes	Grau de maturação da matéria orgânica
Gamacerano (Gam)		Protozoas	Indicador de ambiente hipersalino
18α(H),21β(H)-22,29,30-trisnorneohopano (Ts)		Organismos procariontes	Grau de maturação da matéria orgânica

**17 α (H),21 β (H)-
22,29,30-
trisinorhopano
(Tm)**



Organismos
procariontes

Grau de
maturação da
matéria
orgânica

1.2.5. Parâmetros geoquímicos

Parâmetros geoquímicos são razões obtidas a partir das concentrações ou áreas de biomarcadores presentes no óleo que, quando correlacionados, trazem informações como ambiente deposicional, evolução térmica, salinidade e estágios de biodegradação que formaram o óleo. Esses indicadores são obtidos pela análise dos cromatogramas e espectros de massa dos respectivos íons. Diferentes amostras de óleo podem ser comparadas usando razões geoquímicas, podendo relacioná-las entre si com base nos resultados dos parâmetros (SILVA, 2007; AZEVEDO, SILVA e SILVA, 2009). Sendo assim, é de grande importância esta análise para que a perícia consiga determinar a origem dos derramamentos de óleo, distinguir sua relevância, e monitorar o processo de degradação e o seu estado de intemperismo sob várias condições.

Na **Tabela 5** estão apresentados alguns dos principais parâmetros geoquímicos utilizados para esse estudo.

Tabela 5. 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, 2005.
	> 1	Ambiente deposicional óxido	
Pr/nC₁₇ e Fi/nC₁₈	Pr/nC ₁₇ >1 e Fi/nC ₁₈ >1	Óleo biodegradado	ALVES <i>et al.</i> , 2018
	Pr/nC ₁₇ >1 e Fi/nC ₁₈ <1	Óleo não biodegradado	
	Pr/nC ₁₇ <1 e Fi/nC ₁₈ <1	Óleo não biodegradado	
nC₁₇/nC₁₈, nC₁₇/Pr e nC₁₈/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, 2005
	> 1	Origem em ambiente carbonático	
Ts/(Ts+Tm)	> 0,6	Origem se 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, 2005

1.3. Técnicas analíticas de detecção e identificação dos analitos do petróleo

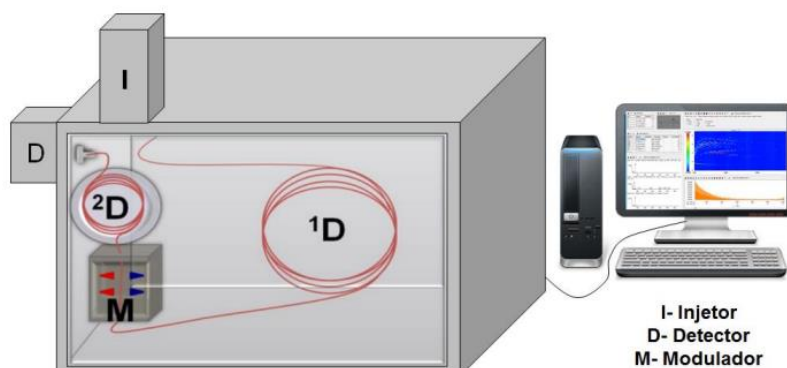
No intuito de se obter uma avaliação geoquímica molecular detalhada do petróleo, podemos destacar duas técnicas analíticas: (i) a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada ao espectrômetro de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS) que permite um aumento na capacidade de separação das classes de substâncias e uma identificação individual das mesmas, com um aumento na seletividade, e (ii) a espectrometria de massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS) que permite a caracterização da fração não-volátil e dos constituintes polares contendo os heteroátomos nitrogênio, enxofre e oxigênio (NSO). Em trabalhos recentes, alguns autores vêm utilizando estas técnicas analíticas com alto poder de resolução com objetivo de se obter uma caracterização detalhada do petróleo (VANINI *et al.*, 2018). A seguir são apresentadas as principais técnicas analíticas utilizadas neste trabalho:

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

A análise das substâncias presentes no petróleo pode ser realizada por uma variedade de técnicas analíticas, dentre elas a cromatografia. Desta forma, buscando sempre um melhor resultado com altas resoluções para matrizes complexas, como o petróleo, LIU e PHILLIPS (1991) iniciaram o desenvolvimento da técnica de cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC), que surgiu como uma ótima alternativa para a solução dos problemas e limitações obtidos em análises por GC unidimensional.

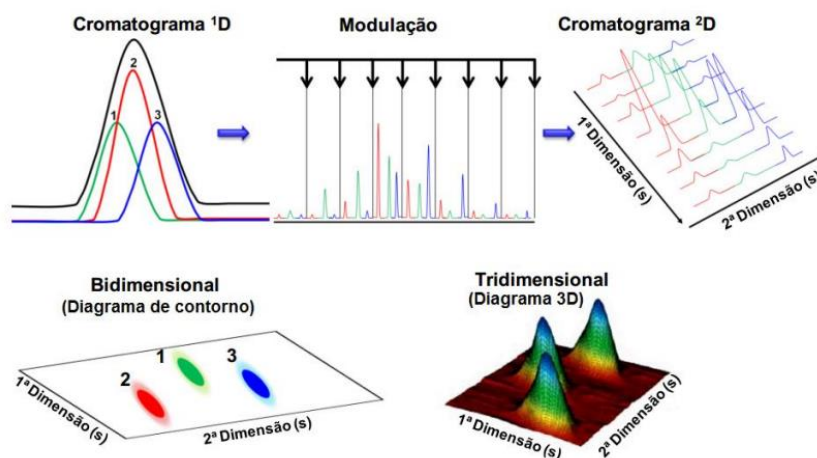
Nessa técnica, são utilizadas duas colunas cromatográficas que são posicionadas de forma sequencial, onde todo o efluente que entra na primeira coluna (¹D) é conduzido para a segunda coluna (²D) por meio de um modulador e chega ao detector (von MÜHLEN *et al.*, 2006), sendo esse o motivo do termo abrangente, **Figura 11**. Outra característica importante é o princípio da ortogonalidade, que permite uma melhor estruturação das classes químicas no plano cromatográfico, elevando a seletividade, já que as colunas da primeira e segunda dimensão apresentam mecanismos de separação independentes, em termos de polaridade e volatilidade.

Figura 11. Esquema representativo de um sistema GC×GC composto por um modulador criogênico de quatro jatos e duplo estágio, onde ¹D, coluna cromatográfica da primeira dimensão e ²D, coluna cromatográfica da segunda dimensão. Adaptado de COUTINHO (2017).



As formas mais comuns de visualização dos cromatogramas são diagramas 2D de cores, diagramas de contorno e diagramas em 3D, sendo o eixo x o tempo de retenção da ¹D e no eixo y o tempo de retenção da ²D. Como pode ser observado na **Figura 12**, o efeito da modulação ao fatiar e focalizar os picos produz um cromatograma de picos modulados, que é transformado através de um *software* em um cromatograma estruturado, onde homólogos são arranjados em linhas no plano de retenção e classes de compostos similares se agrupam em regiões específicas do plano cromatográfico, de acordo com a interação com a fase estacionária. Como o sistema GC×GC é acoplado à um espectrômetro de massas (TOFMS), há uma dimensão extra nos dados, pois cada ponto do plano cromatográfico representa um espectro de massas, e assim é possível obter planos cromatográficos calculados a partir apenas de um ou mais íons de interesse (VANINI *et al.*, 2018).

Figura 12. Formação e visualização de um cromatograma bidimensional. Adaptado de DALLUGE *et al.*, (2003).



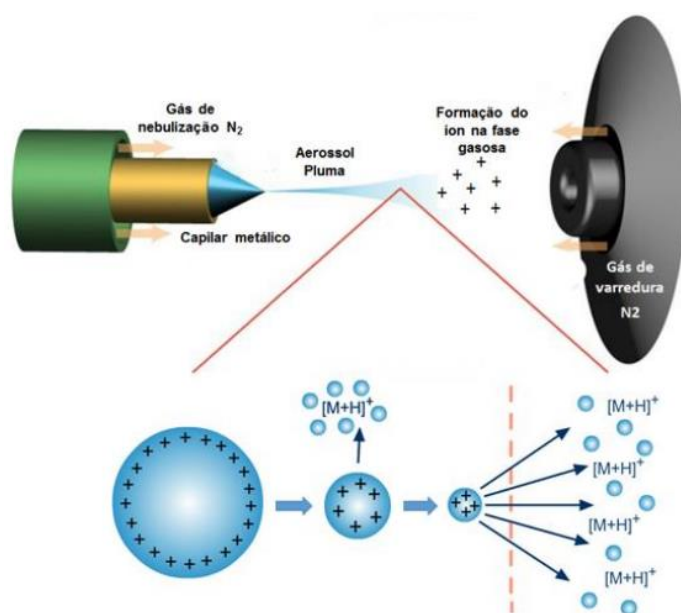
1.3.2. Espectrometria de Massas de alta resolução (Orbitrap-HRMS)

A espectrometria de massas é uma técnica analítica em que átomos ou moléculas de uma amostra são ionizados e separados de acordo com suas relações massa/carga (m/z). De forma geral, a análise por MS compreende as seguintes etapas: 1) introdução da amostra por injeção direta; 2) ionização das moléculas ou acúmulo dos íons; 3) passagem dos íons por um analisador de massas que separa os íons formados de acordo com a relação m/z ou a permanência de um “pacote” de íons no interior de um analisador de massas; 4) o detector, que “conta” os íons e transforma o sinal em corrente elétrica ou um sensor que percebe a órbita dos íons; e 5) o processador que converte a magnitude do sinal elétrico em função da relação m/z ou a transformada de Fourier que desdobra frequências em dados proporcionando o espectro de massas correspondente (SCHMIDT, 2015; VANINI, 2018).

A fonte de ionização *electrospray*, ESI, (**Figura 13**) ioniza as moléculas do analito em solução e estas são transferidas para fase gasosa como entidades isoladas, geralmente na forma de cátions (modo positivo) ou ânions (modo negativo). O aerossol é produzido aplicando um potencial elétrico que induz o acúmulo de cargas na superfície do líquido ao final do capilar, onde serão formadas gotas altamente carregadas positiva e negativamente. Por conta desse modo de ionização, tanto as moléculas de baixa quanto as de alta massa

molecular, podem ser facilmente analisadas por espectrometria de massas, sendo possível analisar milhares de componentes polares de matrizes complexas (MARTINS *et al.*, 2017). Assim, a presença de diversas substâncias contendo heteroátomos faz do ESI uma técnica adequada na análise do petróleo, especialmente das frações mais pesadas que são ricas em compostos sulfurados, oxigenados e nitrogenados.

Figura 13. Ilustração esquemática de uma fonte de ionização por ESI (VANINI *et al.*, 2018).



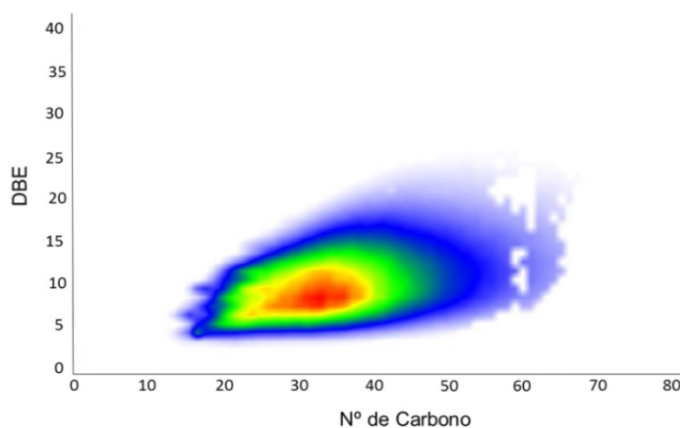
A elevada complexidade estrutural da matriz do petróleo dificulta a atribuição de fórmulas moleculares para os íons identificados nos espectros de massas, haja visto que milhares de íons são gerados no processo de ionização (cerca de 30.000 substâncias são identificadas em uma única análise). Como são gerados milhares de íons no processo de ionização, é preciso ferramentas para que seja possível a interpretação dos dados obtidos, entre eles, histogramas com relação às classes dos compostos e diagramas demonstrando os valores de DBE (*double bond equivalent*) – **Equação 2** – versus número de carbono. Normalmente os dados obtidos a partir de uma análise podem ser organizados em classes, número de anéis e número de ligações duplas (VANINI *et al.*, 2018).

Na **Figura 14** é apresentado um exemplo do diagrama de DBE versus número de carbono, calculado conforme a **Equação 2**.

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

Esse tipo de representação gráfica é importante para comparações de amostras de petróleo, pois permite uma análise visual simples para a identificação de alterações tanto em termos de DBE como na amplitude do grau de alquilação de componentes de uma determinada classe.

Figura 14. Gráfico de DBE versus número de carbono de uma amostra de petróleo por espectrometria de massas utilizando o programa Composer



1.4. Quimiometria

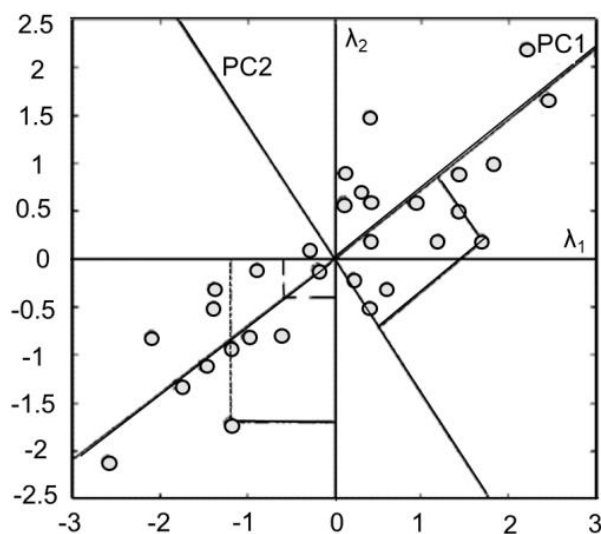
A Quimiometria utiliza ferramentas matemáticas e estatística para a análise de dados, o planejamento e otimização de experimentos na química e áreas correlatas, como astrofísica, geociências e ciências ambientais. Essa área da química permite extrair o máximo de informações úteis de resultados obtidos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

A análise multivariada visa a detecção de padrões de associação no conjunto de dados, a partir dos quais se pode estabelecer relações entre objetos e variáveis. Um dos métodos de análise existentes na Quimiometria para o tratamento de dados multivariados é a análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), utilizada para melhor visualização da estrutura das informações, observar similaridade entre amostras (FERREIRA *et al.*, 1999). É uma técnica estatística que transforma linearmente um conjunto original de variáveis em um conjunto menor de variáveis não correlacionadas que contém a maior parte das informações do conjunto original. Os componentes

principais são escritos, matematicamente, como combinações lineares das variáveis originais cujos vetores são linearmente independentes (ortonormais).

Em uma análise de componentes principais, ocorre naturalmente o agrupamento ou não de amostras, dependendo do grau de similaridade existente entre elas. O agrupamento pode ser observado através de gráficos de *scores* e *loadings*, cujos eixos são as componentes principais nos quais os dados são projetados. Os *scores* são as novas coordenadas em relação ao novo sistema de eixos, as componentes principais, enquanto os *loadings* oferecem a contribuição de cada variável original nas componentes principais. Quando necessário, os dados experimentais originais são normalizados de forma que todas as variáveis passam a estar na mesma escala (Massart *et al.*, 1997; Brereton, 2003). Como exemplo, cada ponto presente no gráfico bidimensional da **Figura 15** 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 15. 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) realizaram um tratamento estatístico por meio de um modelo de regressão direta para duas variáveis, afim de prever informações

de amostras de óleos com °API desconhecidos. Enquanto CARREGOSA *et al.* (2021) e SILVA (2011) fizeram o uso da ferramenta PCA para correlacionar parâmetros geoquímicos dos biomarcadores encontrados nos óleos que dão informações sobre evolução térmica, ambiente deposicional e correlação óleo-óleo.

Considerando o exposto, observa-se a necessidade de desenvolver e avaliar a aplicação de métodos rápidos, eficientes e que forneçam uma avaliação no nível geoquímico molecular de amostras de petróleos brasileiros com ampla faixa de °API e voltadas para estudos forenses. A pesquisa sobre uma variedade de petróleos ajudará a identificar, determinar e propor características de novas amostras que serão exploradas ou envolvidas em crimes ambientais. Assim, as informações fornecidas pelas técnicas GC×GC-TOFMS e ESI-(±)Orbitrap-HRMS podem possibilitar um melhor direcionamento na utilização de tratamentos específicos na retenção do óleo em casos de acidentes ambientais por meio da identificação de biomarcadores, trazendo informações sobre a natureza do petróleo, minimizando assim os efeitos socioeconômicos e ambientais gerados.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Estudar um método para avaliar marcadores geoquímicos presentes no petróleo brasileiro, 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. Desta forma, será possível monitorar e classificar as substâncias presentes em óleos com diferentes valores de °API facilitando a otimização dos procedimentos analíticos existentes, com potencial aplicação em estudos geoquímicos forenses em acidentes ambientais.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliação das condições cromatográficas por GC×GC-TOFMS de amostras de petróleo brasileiro e suas frações do pré e pós sal de diferentes bacias utilizando conjunto de colunas com fase estacionária apolar/polar;
- Análise qualitativa e semiquantitativa de biomarcadores presentes na fração de saturados e determinação dos parâmetros geoquímicos por GC×GC-TOFMS para a elucidação estrutural e composicional.
- Avaliação dos parâmetros instrumentais da técnica Orbitrap-HRMS utilizando a fonte de ionização *electrospray* (ESI) nos modos de ionização positivo e negativo para análise das frações de polares e do petróleo bruto;
- Análise qualitativa das classes químicas presentes nas frações de polares e do petróleo bruto por ESI-(±)Orbitrap-HRMS para obtenção dos dados dos componentes polares e não voláteis (NSO);
- Interpretação dos dados obtidos pelas técnicas GC×GCTOFMS e Orbitrap-HRMS e correlação com a amostra de derramamento ambiental do Nordeste;
- Integração das informações dos parâmetros geoquímicos aplicando Análise por Componente Principal através de tratamentos quimiométricos e correlação com a amostra de derramamento ambiental do Nordeste.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Amostras

Para este estudo foi utilizado um conjunto de 8 amostras de petróleo bruto brasileiro do pré- e pós-sal com valores de °API entre 17,7 e 49,4, e uma amostra referente ao derramamento de óleo nas praias do litoral do nordeste brasileiro em 2019, conforme apresentado na **Tabela 6**. Estas amostras foram disponibilizadas pelo CENPES/Petrobras, pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Durante o estudo, 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 6. Relação de amostras de óleo bruto selecionadas e os valores de °API correspondentes

Amostra	°API
#CO094	17,7
#CO149	26,9
#CO013	29,0
#CO020	30,6
#CO130	34,4
#CO084	36,1
#CO104	49,4
#IB014 - IBAMA	Não informado

3.2. Material

Na primeira etapa, o fracionamento de amostras por cromatografia líquida utilizou as seguintes vidrarias: bécher (25 mL), bastão de vidro, funil, pipetas Pasteur de vidro, proveta (10 mL), balões de fundo redondo (50 mL), coluna de

vidro e frascos de vidro - *vials* (2 mL). Foram usados os solventes *n*-hexano (Sigma Aldrich, EUA), diclorometano (Tedia, Brasil) e metanol (Tedia, Brasil). Para o aduto de ureia, foram usados tubos de vidro para centrifuga, pipetas de vidro, balões volumétricos (50 mL) e *vials* (2 mL). Entre os solventes utilizados estão a acetona (Tedia, Brasil), *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 centrifuga, além de câmara fria para o armazenamento.

3.3. Padrões

Para a análise por GC×GC-TOFMS, as substâncias padrão deuteradas foram utilizadas no preparo da mistura para padronização interna (CDN *Isotopes*, Quebec, Canadá), com grau de pureza superior a 97%. Foi preparada uma solução de 10 µg mL⁻¹ contendo os seguintes padrões em diclorometano: *n*-hexadecano-D₃₄, *n*-tetracosano-D₅₀, 5α-colestano-D₆, pristano-D₄₀, pireno-D₁₀ e dibenzotiofeno-D₈. A **Tabela 7** apresenta os padrões internos deuterados utilizados na semiquantificação.

Tabela 7. Padrões internos deuterados utilizados na análise por GC×GC-TOFMS, seus íons característicos e as concentrações de cada padrão (µg mL⁻¹).

Padrão Interno	Fórmula Molecular	Íon característico/ semiquantificação (<i>m/z</i>)	Concentração (µg 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
5α-Colestano-D ₆	C ₂₇ H ₄₂ D ₆	223	10,30

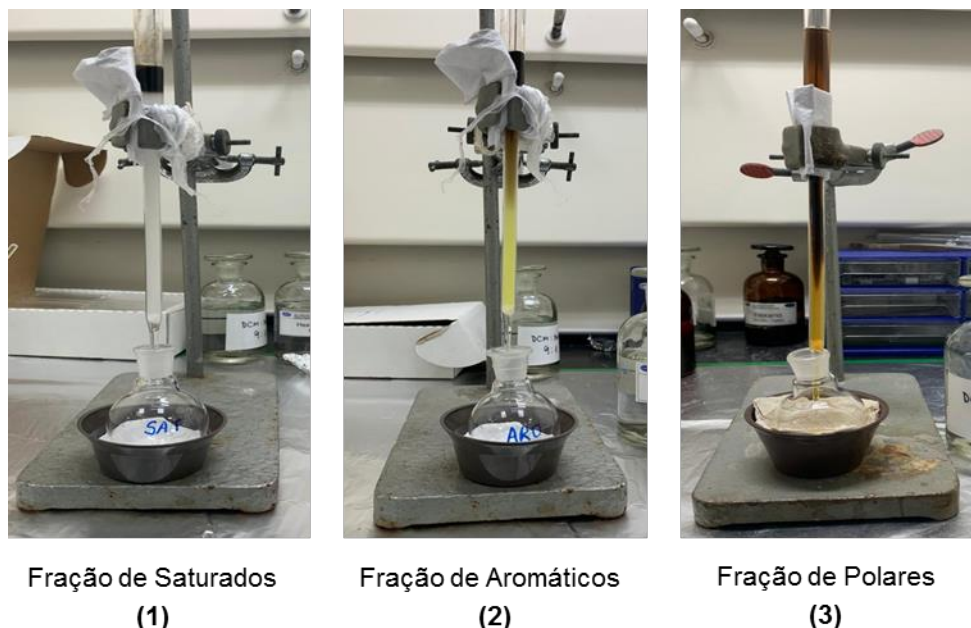
3.4. Preparo das amostras

3.4.1. Fracionamento em cromatografia líquida

Inicialmente foi realizado o fracionamento das amostras de óleo bruto (#CO094, #CO149, #CO013, #CO020, #CO130, #CO084, #CO104, #IB014). Nesta etapa, foi aferido cerca de 100,00 mg de cada amostra de petróleo com auxílio de uma balança analítica e pipeta Pasteur. Após, foi pesado 3,0 g de sílica, previamente ativada a 110 °C por 60 minutos, com intuito de ser utilizada na coluna cromatográfica. Três balões de fundo redondo de 25 mL foram identificados como: saturados (SAT), aromáticos (ARO) e polares (POL). Em seguida, obstruiu parcialmente a coluna de vidro com um pequeno algodão e adicionou uma mistura da sílica ativada com 10,0 mL de *n*-hexano, a fim de realizar o empacotamento da coluna. Logo após observar a formação de uma coluna de sílica homogênea (sem bolhas de ar e/ou rachaduras), a amostra de petróleo foi transferida para o topo da coluna de sílica com o auxílio de 300 µL de *n*-hexano e repetiu esse procedimento cerca de cinco vezes. Para cada amostra de petróleo foi realizado o mesmo procedimento.

Na **Figura 16** pode-se ver as etapas do fracionamento do petróleo por cromatografia em coluna, onde a primeira fração a ser coletada na coluna de vidro usando o balão de fundo redondo foram as dos compostos saturados (SAT) **(1)**. Posteriormente, foi adicionado ao topo da coluna de sílica 10,0 mL de *n*-hexano para eluir a fração de saturados. Depois que a eluição foi completa, recolheu o volume de fase móvel no balão SAT. Colocou o balão rotulado como ARO **(2)** sob a coluna, e adicionou lentamente ao topo da coluna 10,0 mL de uma mistura *n*-hexano/diclorometano (8:2), e, com esse eluente, foi obtido a fração de aromáticos (ARO). Após, foi recolhido o volume de fase móvel no balão ARO e este foi reservado. Por último, foi posicionado sob a coluna de vidro, o balão rotulado de POL **(3)** e, em seguida foi adicionado 10,0 mL de uma mistura de diclorometano/metanol (9:1) para eluir a fração dos compostos polares (POL). A fim de garantir a transferência completa, foi colocado ao topo da coluna 2,0 mL de metanol.

Figura 16. Fracionamento do petróleo por cromatografia líquida em coluna



Ao final do fracionamento, cada balão recolhido foi acoplado ao rotaevaporador para serem evaporados os solventes sob pressão reduzida e aquecimento de 50 °C. É importante mencionar que o ponto de ebulição dos solventes são 40 °C, 65 °C e 68 °C, para o diclorometano, metanol e *n*-hexano, respectivamente.

As frações secas de cada amostra de petróleo fracionada foram transferidas para frascos de vidro de 2 mL, previamente pesados e codificados, utilizando cerca de 200 µL de diclorometano. Em seguida, os solventes dos frascos de 2 mL foram evaporados sob fluxo brando de nitrogênio e estes foram pesados até massa constante, obtendo-se a massa (mg) de cada fração recuperada (**Tabela 9**).

3.4.2. Isolamento das frações de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados de frações de hidrocarbonetos saturados (SAT) por aduto de ureia

Para realizar esta etapa, foi utilizado o procedimento descrito por MAROTTA *et al.*, 2014, no qual foi adicionado 1,0 mL de *n*-hexano ao frasco de vidro de 2 mL contendo a fração de SAT, e transferiu 500 µL para o tubo de centrifuga. Foi acrescentado novamente 1,0 mL de *n*-hexano e 1,0 mL de acetona e realizada a mistura. Por fim, foi transferido 1,0 mL de solução saturada de ureia em metanol com ajuda de uma pipeta Pasteur. Em seguida, os tubos

foram dispostos em banho-maria à 50°C por 10 minutos, solubilizando os cristais de ureia e posteriormente a solução foi resfriada até temperatura ambiente, em repouso, para a recristalização da ureia. Seguidamente, os tubos foram levados ao freezer à -20°C durante 12 horas.

A amostra foi seca em fluxo de nitrogênio até se observar a formação dos cristais de ureia. Para obtenção da fração de cíclicos e ramificados (C+R), foi realizada uma etapa de lavagem dos cristais obtidos, onde foi adicionado 1,0 mL de *n*-hexano ao tubo seco e posteriormente, mais 1,0 mL para totalizar 2,0 mL de *n*-hexano, onde o sobrenadante líquido foi vertido para um balão de fundo redondo rotulado com cíclicos e ramificados. Esse procedimento foi repetido 5 vezes, totalizando 10 mL para cada amostra. Depois de ter retirado todos os cíclicos e ramificados, prosseguiu para a retirada dos lineares dos cristais. Para isso, foram quebrados os cristais de ureia com adição de 2,0 mL de água destilada e agitação do tipo vórtex por 1 minuto, observando a quebra dos cristais. Logo após, foi adicionado 2,0 mL de *n*-hexano, passando no vórtex por 1 minuto e em seguida a fase orgânica foi transferida para outro balão volumétrico previamente identificado (lineares). Este procedimento foi repetido 5 vezes, até totalizar 10 mL. Os dois balões (C+R e L) de cada amostra foram rotaevaporados. Depois, os dois frascos de vidro foram rotulados e pesados para a transferência dos conteúdos de cada balão evaporado. Esta transferência foi feita adicionando *n*-hexano de 0,2 mL em 0,2 mL, rinsando toda a parede do balão, 5 vezes. Por fim, os solventes dos frascos de vidro foram evaporados sob fluxo de nitrogênio e pesados, para o cálculo do rendimento, sendo as porcentagens (%) das frações de SAT, ARO e POL foram calculadas pela razão entre a massa da fração recuperada (mg) \times 100 / massa inicial de óleo (mg).

3.4.3. Preparo das frações de cíclicos e ramificados para análise por GC \times GC-TOFMS

Para realizar a análise por cromatografia gasosa bidimensional (GC \times GC-TOFMS) foram adicionados padrões deuterados (5 α -colestano-D₆, dibenzotiofeno-D₈, *n*-hexadecano-D₃₄, pireno-D₁₀, pristano-D₄₀ e *n*-tetracosano-D₆₀) às frações dos cíclicos e ramificados obtidas do isolamento por aduto de ureia. A solução de padrões foi preparada em diclorometano e obtido uma

concentração final de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de solução de cada padrão deuterado na amostra a ser analisada (**Tabela 7**).

3.4.4. Preparo das amostras para análise por Orbitrap-HRMS

As análises foram feitas de duas formas: **i)** utilizando o petróleo bruto; **ii)** utilizando as frações de polares (POL) de cada amostra, ambas analisadas nos modos de ionização positivo, ESI(+), e negativo, ESI(-).

Para a análise do petróleo bruto, foi pesado 1,0 mg de cada óleo em dois frascos de vidro de 2 mL e diluído em 0,5 mL de tolueno. Para a realização da análise no modo positivo foi adicionado nas amostras diluídas 0,5 mL de metanol com 0,2% de ácido fórmico. Já para as análises no modo negativo, foi adicionado 0,5 mL de metanol com 0,2% de hidróxido de amônio, obtendo uma concentração final de $1,00 \text{ mg mL}^{-1}$.

Para a análise das frações de polares, extraída previamente pelo fracionamento (**item 3.4.1**), as amostras também foram diluídas inicialmente em tolueno. Onde para a análise do modo positivo foi adicionado 0,5 mL de metanol com 0,2% de ácido fórmico e para o modo negativo foi inserido 0,5 mL de metanol com 0,2% de hidróxido de amônio. A concentração final das amostras foi de $1,00 \text{ mg mL}^{-1}$.

3.5. Instrumentação analítica

3.5.1 GC×GC-TOFMS

As análises foram realizadas em um sistema GC×GC-TOFMS modelo 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 (TOFMS), modelo Pegasus H11 (Leco, St. Joseph, MI, USA).

Para realizar a análise das frações dos C+R foram utilizados o conjunto de fase estacionária das colunas cromatográficas no modo apolar/polar, no qual as colunas foram: HP-5 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), 5%-fenil-

95%-metilsiloxano (30 m, 0,25 mm d. i., 0,25 μm dr) 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 dr) na segunda dimensão (^2D). Os parâmetros cromatográficos utilizados podem ser vistos na **Tabela 8**.

Tabela 8. Parâmetros cromatográficos para análise da fração de hidrocarbonetos saturados cíclicos e ramificados do petróleo por GC \times GC-TOFMS.

Parâmetros Cromatográficos	Fração de hidrocarbonetos saturados cíclicos e ramificados
Programa de temperatura	^1D : 70°C a 330°C ^2D : 10°C acima de do ^1D
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	1,0 μL
Período de modulações	6 s
Isoterma inicial	1 min
Temperatura da linha de transferência	300°C
Temperatura do injetor	290°C

A aquisição e o processamento dos dados foram realizados com o uso do programa ChromaTOF $^{\text{®}}$ versão 4.4 (Leco, St. Joseph, MI, USA). Após a coleta de dados, as amostras foram processadas utilizando uma relação sinal/ruído de 100. As áreas de cada pico foram determinadas usando os picos base de cada espectro, criando uma lista de todas as substâncias detectadas. A identificação dos biomarcadores foi realizada comparando o espectro de massas obtido com o da biblioteca NIST *Mass Spectral* versão 2.0, bem como uma avaliação do tempo de retenção da primeira ($^1t_{\text{R}}$) e segunda dimensão ($^2t_{\text{R}}$) e da ordem de eluição. A partir disso, foi utilizado um filtro de similaridade, onde apenas as substâncias com espectros de massas apresentando similaridade maior que 700 foram utilizadas (VANINI *et al.*, 2018). As amostras foram analisadas a partir dos

cromatogramas de íons totais (TIC) e dos cromatogramas de íons extraídos (EIC). A caracterização dos principais grupos de biomarcadores foi amplamente alcançada usando os íons característicos dos fragmentos das moléculas.

3.5.1.1. Cálculos da análise semiquantitativa

A partir da seleção do íon característico para cada classe e das concentrações dos padrões deuterados, foi possível realizar a análise semiquantitativa, com base das **Equações 3 e 4** apresentadas a seguir. Assim foi encontrado as concentrações dos principais biomarcadores de cada amostra. Para esta análise, a concentração dos analitos foi realizada a partir da **Equação 3**:

$$\begin{aligned} & \text{Concentração do analito } (\mu\text{g mL}^{-1}) \\ &= \frac{\text{Concentração do PI } (\mu\text{g mL}^{-1}) \times \text{Área do analito}}{\text{Área do PI}} \end{aligned}$$

A unidade da concentração do analito encontrada na **Equação 3** foi de $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para obter essa concentração em μg por massa da amostra de petróleo, foi utilizada a **Equação 4**:

$$\begin{aligned} & \text{Concentração do analito } (\mu\text{g mg}_{\text{amostra}}^{-1}) \\ &= \frac{\text{Concentração do analito } (\mu\text{g mL}^{-1}) \times \text{Volume do PI adicionado}}{\text{massa da amostra de óleo pesada (mg)}} \end{aligned}$$

3.5.2. Orbitrap-HRMS

Um espectrômetro de massas do tipo Orbitrap *Q-Exactive Plus* (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha) foi empregado nas análises do conteúdo de polares (oxigenados, nitrogenados e estruturas contendo enxofre combinado com outros heteroátomos do tipo N e O) nas amostras de petróleos brutos e fracionadas (POL). Previamente à aquisição dos espectros de ESI(\pm)-Orbitrap-HRMS, foi realizada uma avaliação experimental dos principais parâmetros de aquisição como: concentração, voltagem do capilar e temperatura do capilar, de modo a melhorar a visualização dos resultados.

A solução da amostra de concentração $1,00 \text{ mg mL}^{-1}$ foi injetada diretamente (infusão direta) na fonte de ESI a um fluxo de $10 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$. 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* = ESI(+)10 / (-)6 psi; ii) *sweep gas flow rate* = 0; iii) voltagem do *spray* = 3300V ESI(-) e 3600V ESI(+); vi) temperatura do capilar = $350 \text{ } ^\circ\text{C}$; v) fluxo do gás auxiliar: 0 psi e vi) voltagem *SLens*: 300. Cada espectro de massas foi adquirido a partir do acúmulo 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*) a 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 ^{12}C , ^1H , ^{16}O , ^{14}N , ^{32}S e ^{13}C . O erro máximo aceitável de atribuição foi de 5 ppm.

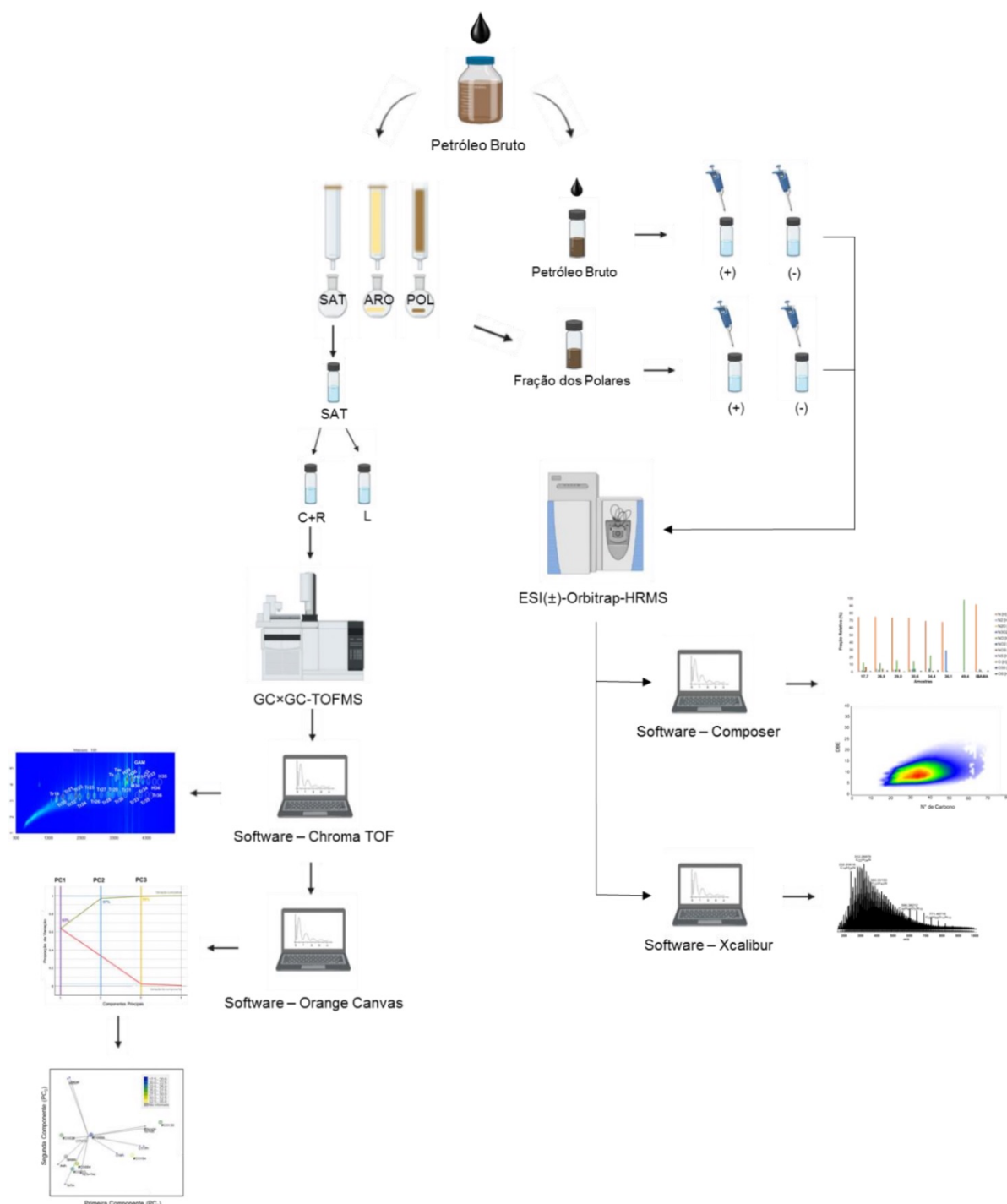
3.5.3 Análise Quimiométrica

A partir das informações obtidas nas análises por GC×GC-TOFMS das 8 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 - *Principal Component Analysis*), associando os parâmetros geoquímicos com as características físico-químicas das amostras, como o $^{\circ}\text{API}$. A amostra #IB014 foi

aplicada para avaliar o efeito do comportamento químico molecular das amostras em derramamentos de petróleo.

Na **Figura 17** há uma representação resumida do esquema experimental deste trabalho.

Figura 17. 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. Na **Tabela 9** é possível visualizar as massas pesadas de petróleo bruto em cada amostra e a massa de suas respectivas frações recuperadas.

Tabela 9. Tabela com as massas (mg) de cada amostra e a massa de suas respectivas frações recuperadas.

Amostra	Massa amostra (mg)	m _{SAT} (mg)	m _{ARO} (mg)	m _{POL} (mg)
#CO094	113,42	50,42	13,66	37,34
#CO149	100,86	60,41	9,77	26,74
#CO013	105,52	42,40	18,94	17,72
#CO020	103,44	50,93	10,23	21,46
#CO130	105,49	47,83	7,63	16,72
#CO084	100,95	53,70	6,44	11,47
#CO104	104,90	38,18	1,93	1,01
#IB014	101,72	65,76	15,10	9,81

A análise dos resultados foi realizada através do cálculo das porcentagens relativas de cada uma das frações: SAT, ARO e POL. Para cada fração calculou-se a massa obtida no fracionamento por diferença entre a massa final e inicial do frasco de vidro. Considerou-se como 100 % a massa inicialmente pesada de 100,00 mg, sendo a percentagem de cada fração em relação à massa inicial. A diferença são perdas por evaporação dos compostos leves e/ou perda dos compostos muito polares por adsorção à sílica.

$$\text{SAT \%} = [m_{\text{SAT}} / (m_i)] \times 100$$

$$\text{ARO \%} = [m_{\text{ARO}} / (m_i)] \times 100$$

$$\text{POL \%} = [m_{\text{POL}} / (m_i)] \times 100$$

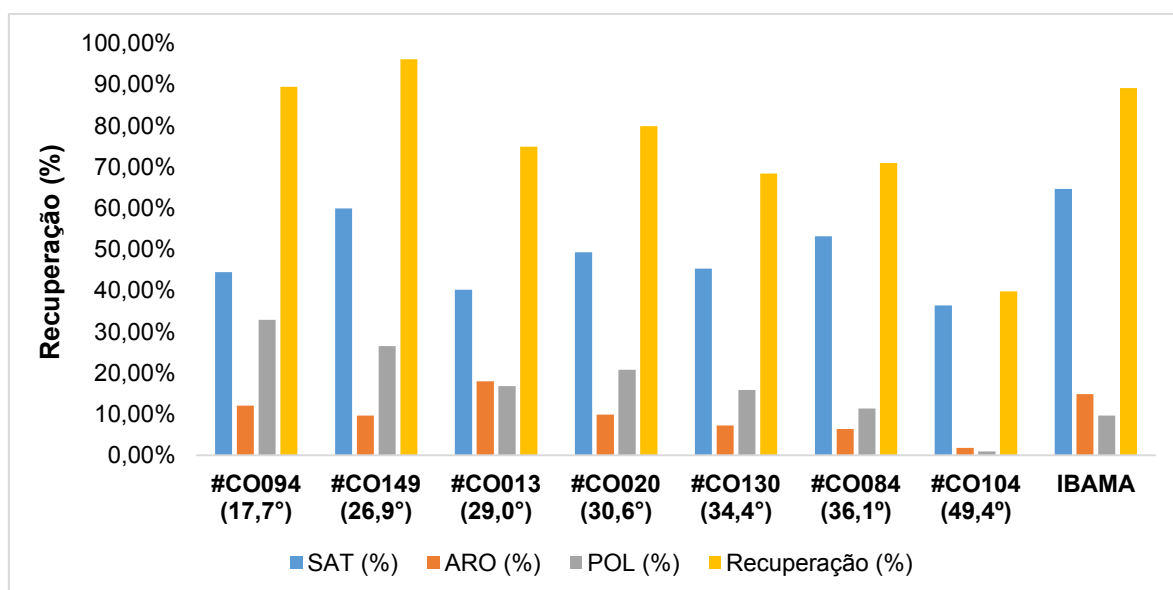
$$\text{Recuperação \%} = [(m_{\text{SAT}} + m_{\text{ARO}} + m_{\text{POL}}) \times 100] / m_i$$

Segundo MAROTTA *et al.* (2014), os dados de recuperação são considerados: 100-80 % ideal; 79-60 % aceitáveis; menores que 60 % indesejáveis.

Tabela 10. Percentual das frações de cada amostra e sua recuperação

Amostra	°API	SAT (%)	ARO (%)	POL (%)	Recuperação (%)
#CO094	17,7	44,45%	12,04%	32,92%	89,42% (ideal)
#CO149	26,9	59,89%	9,69%	26,51%	96,09% (ideal)
#CO013	29,0	40,18%	17,95%	16,79%	74,92% (aceitável)
#CO020	30,6	49,24%	9,89%	20,75%	79,87% (aceitável)
#CO130	34,4	45,34%	7,23%	15,85%	68,42% (aceitável)
#CO084	36,1	53,19%	6,38%	11,36%	70,94% (aceitável)
#CO104	49,4	36,40%	1,84%	0,96%	39,80% (indesejável)
#IB014 IBAMA	*	64,65%	14,84%	9,64%	89,14% (ideal)

Figura 18. Gráfico com os percentuais das frações de cada amostra e sua recuperação



Foi possível observar na **Tabela 10** e **Figura 18** que, dentre todas as amostras analisadas, a maior fração obtida foi a dos compostos saturados, sendo de 36,40% para a amostra #CO104 (49,4 ° API) e de 64,65% para a amostra do IBAMA. As frações de polares apresentaram porcentagens maiores do que a de aromáticos, com exceção dos óleos #CO013, #CO104 e a amostra fornecida pelo IBAMA.

As recuperações encontradas para cada amostra foram consideradas aceitáveis (68,42% para amostra #CO130) a ideais (96,09% para amostra #CO149), com exceção da amostra com °API 49,4, petróleo leve. COUTINHO *et al.* (2018) observou em suas análises em cromatografia líquida uma recuperação parecida para sua amostra leve e assinalou que essa baixa recuperação pode ser devido ao fato de ser um condensado, ou seja, um fluido rico em hidrocarbonetos de baixo ponto de ebulição. Além dessa grande fração de *n*-alcanos na composição do óleo, pode ter ocorrido perdas de compostos voláteis durante o fracionamento por coluna, devido a adsorção de polares na sílica e pela evaporação dessas moléculas e resultando assim em uma menor recuperação (MAROTTA, 2014).

A partir da fração de saturados, foi realizado o aduto de ureia para separar os hidrocarbonetos de cadeia linear dos cíclicos e ramificados, e realizar o 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 11**.

Tabela 11. Massa das frações de hidrocarbonetos cíclicos mais ramificados e lineares após o aduto de ureia e as relações com as massas da fração de saturados e da amostra total.

Amostra	°API	m _{C+R} (mg)	m _L (mg)	Porcentagem em relação à massa da fração de saturados (%)		Porcentagem em relação à massa de amostra (%)	
				C+R	L	C+R	L
#CO094	17,7	16,00	2,10	31,73	4,17	14,11	1,85
#CO149	26,9	4,10	2,10	6,79	3,48	4,07	2,08
#CO013	29,0	17,71	3,04	41,77	7,17	16,78	2,88
#CO020	30,6	12,10	1,90	23,76	3,73	11,72	1,84
#CO130	34,4	8,50	1,40	17,77	2,93	8,06	1,33
#CO084	36,1	14,02	9,02	26,11	16,80	13,89	8,93
#CO104	49,4	9,89	5,60	25,90	14,67	9,43	5,34
#IB014 IBAMA	*	25,37	0,85	38,58	1,29	24,94	0,84

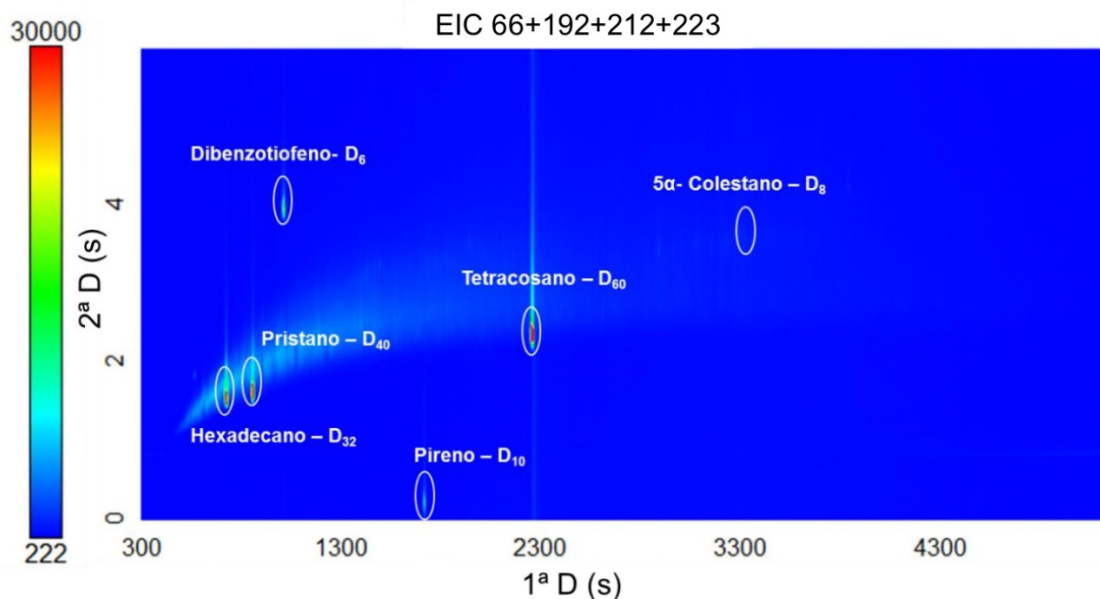
* Não Informado

4.2. GC×GC-TOFMS: Análise qualitativa

A análise qualitativa por GC×GC-TOFMS foi realizada usando as frações de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados. Essa técnica possibilitou a construção de cromatogramas com base nas propriedades físico-químicas das moléculas, determinando assim as classes químicas presentes no óleo (VON MÜHLEN *et al.*, 2006). Sendo assim, os biomarcadores foram identificados analisando os cromatogramas e os espectros de massa em cada uma das amostras e os comparando com os espectros encontrados na literatura e em bibliotecas, como a NIST (*National Institute of Standards & Technology*).

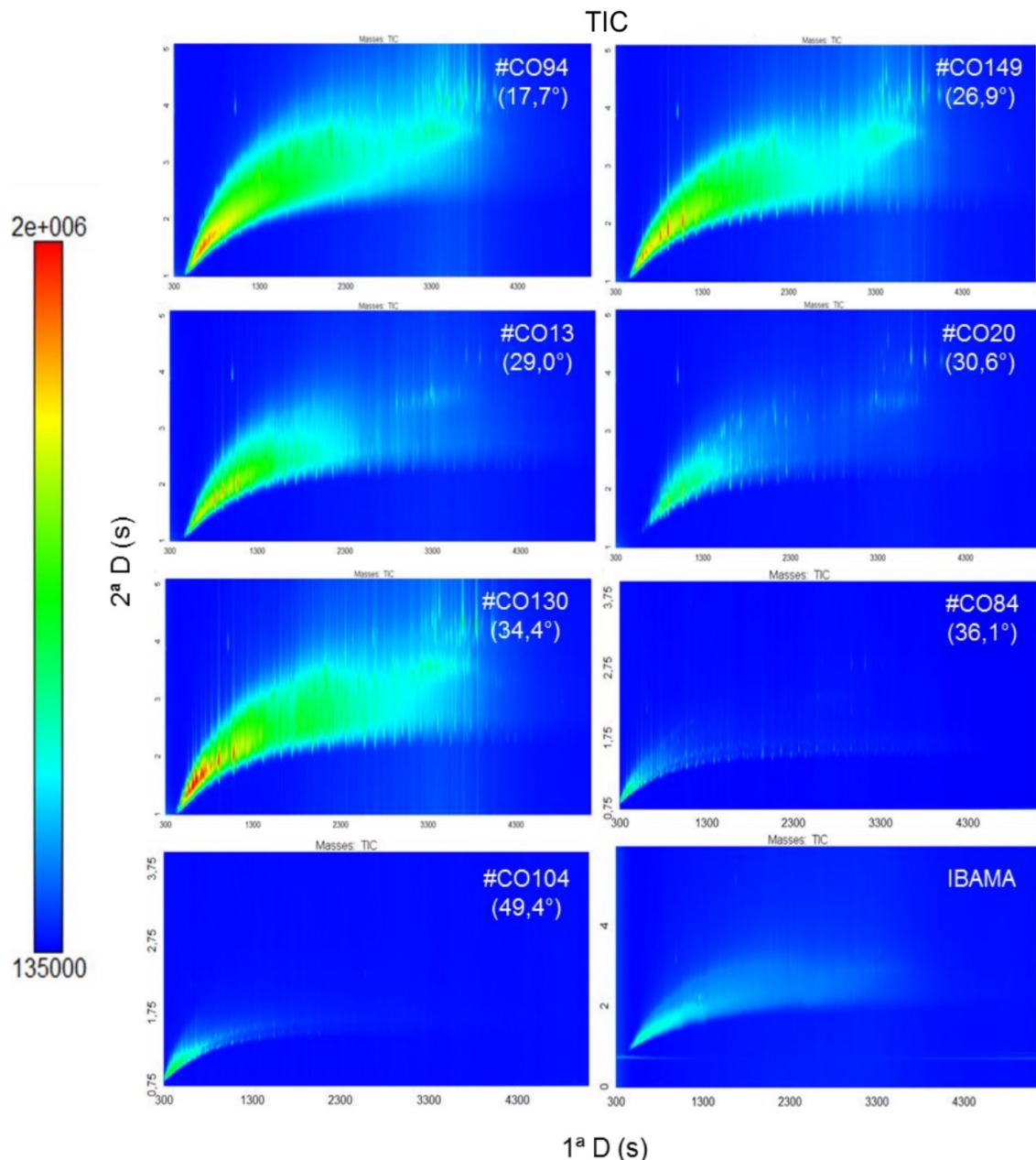
Na **Figura 19**, é possível observar o cromatograma de íons extraídos (EIC) dos padrões internos deuterados, sendo no eixo x a primeira dimensão (¹D) e no eixo y a segunda dimensão (²D). Para essa análise qualitativa foi utilizada as razões massa/carga (*m/z*) 66, 192, 212 e 223, para encontrar respectivamente os padrões: *n*-hexadecano-D₃₄, pristano-D₄₀, tetracosano-D₆₀, dibenzotiofeno-D₈, pireno-D₁₀ e 5 α -colestano-D₆.

Figura 19. EIC 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 (TIC), ilustrados na **Figura 20** por ordem de °API e a amostra do IBAMA que não foi fornecido o °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 cromatográficos com intensidade distintas dos analitos presentes.

Figura 20. TIC das amostras de petróleo bruto obtido por GC×GC-TOFMS.



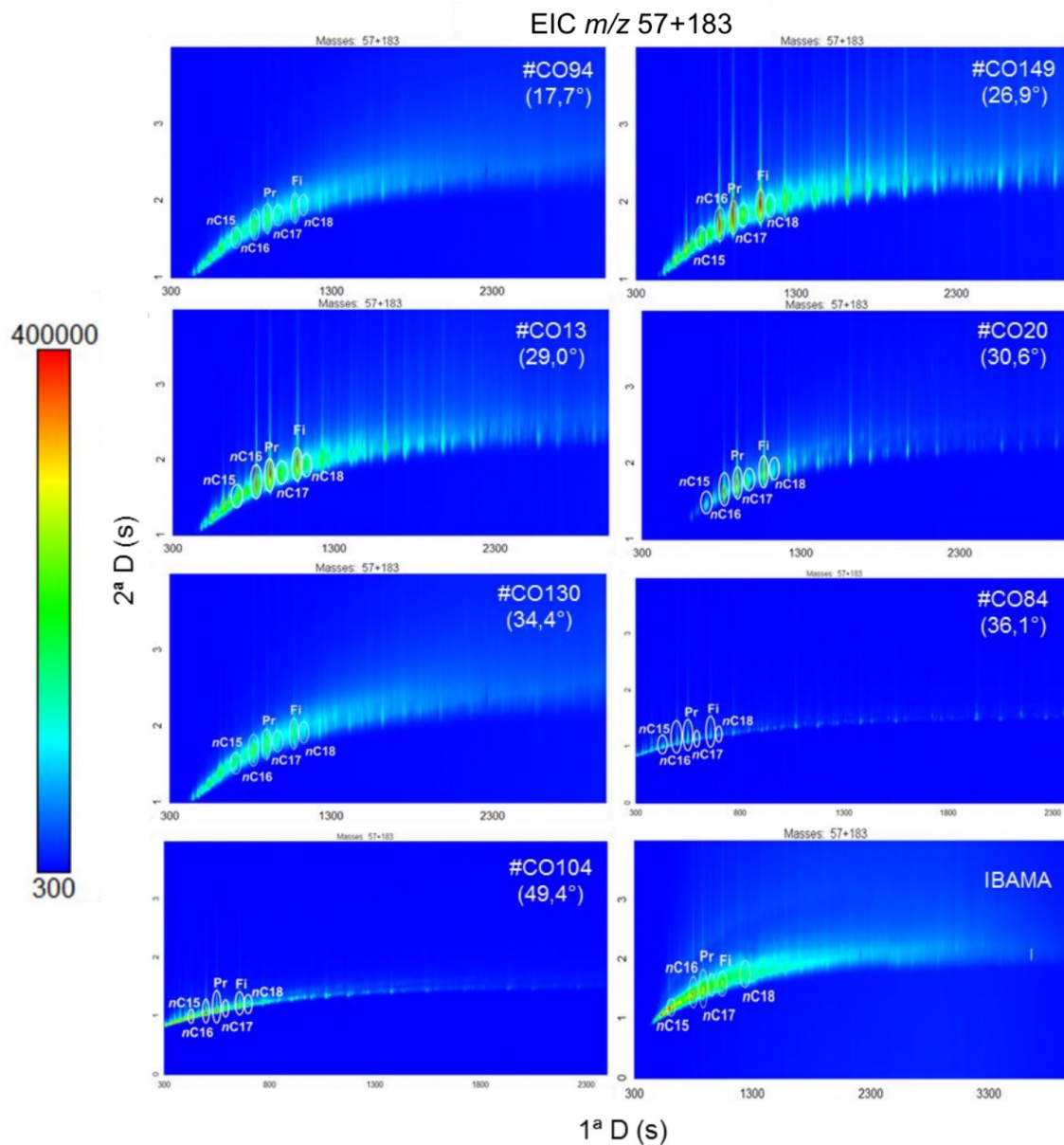
Com base na **Figura 20**, é possível sugerir que com o aumento do °API, ou seja, quanto mais leve é o petróleo, menor é a intensidade de íons nos tempos de retenção na 1ª D entre 300s e 2300s, com exceção da amostra de óleo leve #CO130 que apresentou uma alta intensidade. Em uma comparação qualitativa da intensidade mostrada nos cromatogramas, a amostra do IBAMA se assemelha às amostras de petróleo intermediário: #CO013 (°API 29,0) e #CO020 (°API 30,6).

Para este trabalho, foram analisados os cromatogramas de íons extraídos com o objetivo de identificar as classes químicas e biomarcadores que possibilitam os cálculos dos parâmetros geoquímicos para assim caracterizar o

petróleo. A partir do íon extraído m/z 57+183 foram identificados os hidrocarbonetos lineares e ramificados, como o nC_{17} , nC_{18} , pristano (Pr) e fitano (Fi). Já pelo íon extraído de m/z 191 foram identificados os hopanos, terpanos tricíclicos e o gamacerano.

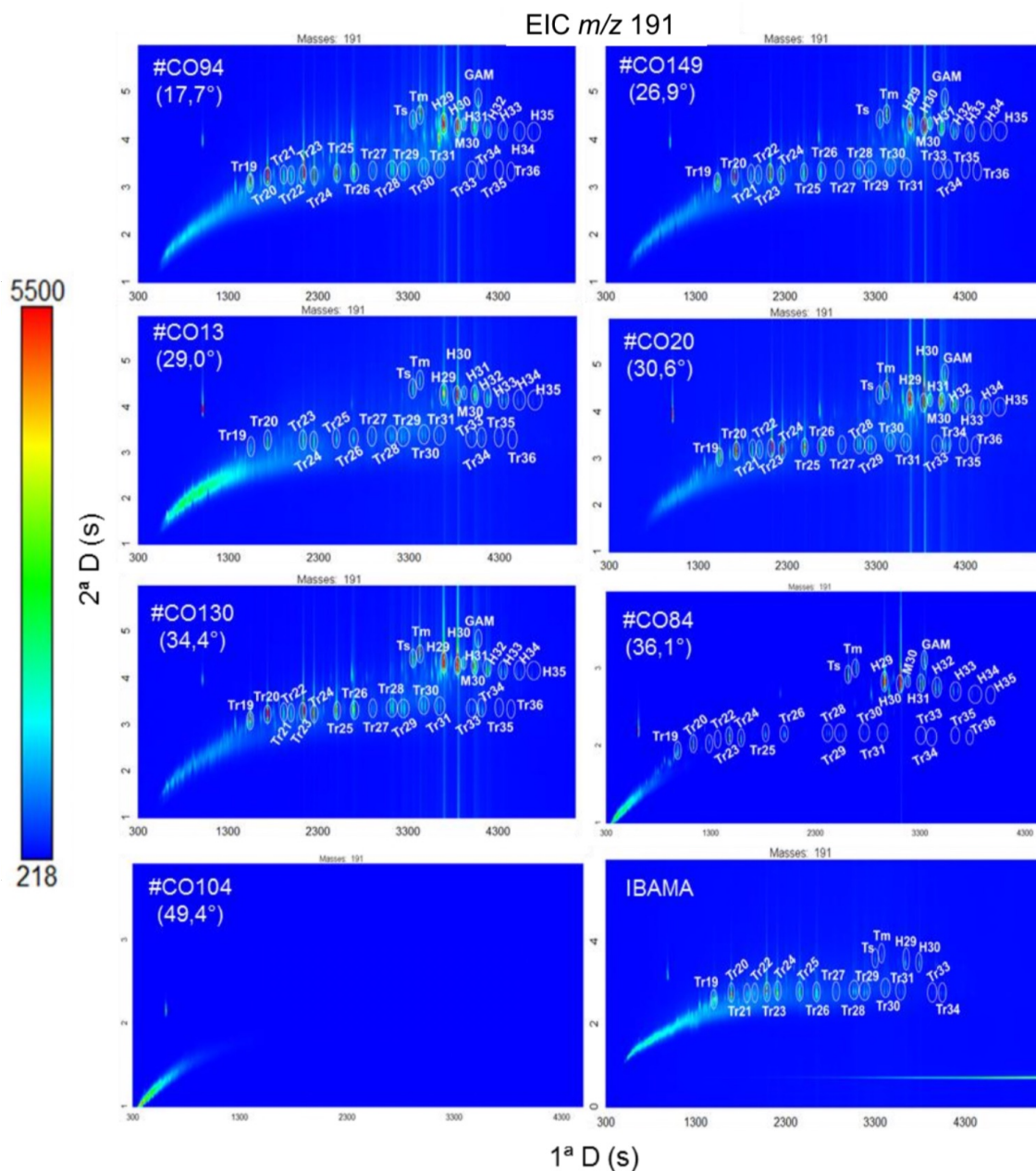
O modo que o cromatograma bidimensional está organizado proporciona uma melhor visualização da categorização dos biomarcadores de acordo com suas propriedades físicas e químicas, ajudando assim a identificação das substâncias presentes no óleo, através da formação de séries homólogas. A **Figura 21** apresenta os cromatogramas de íons extraídos (EIC) para m/z 57+183 dos óleos brutos, no qual foram identificados os seguintes hidrocarbonetos lineares: pentadecano (nC_{15}), hexadecano (nC_{16}), heptadecano (nC_{17}) e octadecano (nC_{18}), e os isoprenóides pristano (Pr) e fitano (Fi). Essas substâncias se encontram em tempos de retenção (t_R) menores devido à baixa polaridade. Desse modo, foi possível realizar a análise qualitativa desses hidrocarbonetos nos cromatogramas de todas as amostras por meio das séries homólogas. Seguindo, na **Figura 21** encontram-se os espectros de massas das moléculas identificadas para m/z 57+183.

Figura 21. EIC m/z 57+183 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC \times GC-TOFMS.



A **Figura 22** apresenta os cromatogramas de íons extraídos m/z 191 contendo os biomarcadores identificados, entre eles as séries homólogas de 17-nor-terpanos tricíclicos (Tr_n) e $17\alpha(H),21\beta(H)$ -hopanos (H_n), além dos terpanos pentacíclicos $18\alpha(H)$ -22,29,30-trisnor-neohopano (Ts), $17\alpha(H)$ -22,29,30-trisnor-hopano (Tm) e Gamacerano (Gam).

Figura 22. EIC m/z 191 das amostras de petróleo analisadas obtido por GC \times GC-TOFMS, e seus respectivos biomarcadores identificados.



Segundo ARAÚJO *et al.* (2020), terpanos tricíclicos eluem em menor tempo de retenção na 2^{D} do que terpanos tetracíclicos e pentacíclicos, respectivamente. É possível observar a classe dos terpanos tricíclicos presentes na faixa de 19 a 36 átomos de carbono nas amostras #CO094, #CO149, #CO020 e #CO130. Na amostra #CO013 não foram identificados o Tr₂₁ e o Tr₂₂, e na amostra #CO084 não foi encontrado o Tr₂₇. Já a amostra do IBAMA (#IB014) foi identificado a série de terpanos tricíclicos até a molécula contendo 34 carbonos para o método de análise utilizado.

Para a série homóloga de $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ -hopanos (H_n) foi identificada na faixa de 29 a 35 átomos de carbono, exceto na amostra #IB014 que só foram identificados o H_{29} e o H_{30} . Foi visto que a partir do gradiente de cores os hopanos H_{29} e H_{30} estão visualmente em maior abundância na maioria das amostras. Além disso, os biomarcadores $18\alpha(\text{H})$ -22,29,30-trisnor-neohopano (Ts) e $17\alpha(\text{H})$ -22,29,30-trisnorhopano (Tm) foram identificados em grande parte das amostras.

O terpano pentacíclico Gamacerano (Gam) pôde ser verificado nas amostras #CO094, #CO149, #CO020, #CO130 e #CO084, porém não foi identificada nas amostras #CO013 e na amostra do derramamento do Nordeste (#IB014).

Por outro lado, na amostra de petróleo leve #CO104 (49,4 °API) não foi possível encontrar nenhum biomarcador utilizando o método proposto e através do íon extraído m/z 191 e a relação sinal/ruído 100. Isso pode ter ocorrido devido à concentração baixa dessa classe de biomarcadores nessa amostra, não permitindo sua identificação a partir deste método.

Dessa maneira, para este conjunto de amostras e utilizando m/z 57+183 e 191 foi possível identificar nas amostras pesadas de °API 17,7 e 26,9, 34 biomarcadores, enquanto nas amostras intermediárias de °API 29,0 foram identificados 30 biomarcadores e a outra de °API 30,6 já foram identificados 34 biomarcadores. Ainda, nas amostras leves de °API 34,4, °API 36,1 e °API 49,4 foram identificados respectivamente 34, 33 e 6 biomarcadores. Todavia a amostra do IBAMA, sem °API aferido, foram identificados 23 biomarcadores.

4.3 GC×GC-TOFMS: Análise semiquantitativa

A análise semiquantitativa por GC×GC-TOFMS dos biomarcadores identificados nas amostras foi realizada a partir da 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. Para a classe dos hidrocarbonetos lineares ($n\text{C}_{15}$, $n\text{C}_{16}$, $n\text{C}_{17}$ e $n\text{C}_{18}$) o padrão deuterado utilizado para análise foi o Hexadecano- D_{32} , já para os hidrocarbonetos ramificados (Pr e Fi) foi usado o Pristano- D_{40} . Enquanto para a

análise dos terpanos tricíclicos, tetracíclicos e pentacíclicos (hopanos) o padrão deuterado utilizado foi o 5 α -Colestano-D₆.

Na **Tabela 12** estão as concentrações obtidas pela semiquantificação dos analitos identificados em $\mu\text{g mL}^{-1}$, considerando a relação sinal/ruído 100.

Tabela 12. Concentrações ($\mu\text{g mg}^{-1}$) dos analitos identificados nas frações (C+R) das amostras de petróleo analisadas por GC \times GC-TOFMS.

	#CO94 (17,7°)	#CO149 (26,9°)	#CO13 (29,0°)	#CO20 (30,6°)	#CO130 (34,4°)	#CO84 (36,1°)	#CO104 (49,4°)	#IB14
<i>nC</i> ₁₅	17,23	10,4	2,30	0,58	9,93	0,06	981,62	0,003
<i>nC</i> ₁₆	24,90	26,71	4,59	0,12	16,95	2,39	22,42	0,082
<i>nC</i> ₁₇	0,60	4,33	0,05	0,65	5,25	3,82	31,10	0,023
<i>nC</i> ₁₈	3,12	8,76	0,10	0,14	15,09	5,34	28,37	0,042
Pr	1,14	136,56	0,05	1,29	0,08	2,05	0,24	0,036
Fi	3,27	1027,97	0,11	1,19	10,88	7,27	0,44	0,017
Tr ₁₉	1,70	19,67	0,36	0,81	3,47	0,23	-	0,107
Tr ₂₀	2,87	46,45	0,42	1,38	5,07	0,52	-	0,261
Tr ₂₁	0,39	0,47	0,32	0,07	1,57	0,08	-	0,060
Tr ₂₂	0,26	3,07	7,05	0,30	0,64	0,14	-	0,026
Tr ₂₃	11,26	50,79	0,12	0,87	9,49	0,47	-	0,092
Tr ₂₄	1,82	22,85	0,53	1,80	6,59	0,28	-	0,264
Tr ₂₅	0,76	17,92	1,02	0,42	3,60	0,13	-	0,126
Tr ₂₆ S	0,08	8,25	0,31	0,17	1,47	0,61	-	0,087
Tr ₂₆ R	3,76	6,26	0,54	1,80	0,60	0,11	-	0,053
Tr ₂₇	0,12	1,11	0,29	0,04	0,34	-	-	0,026
Tr ₂₈ S	0,55	3,60	0,72	9,95	0,21	0,04	-	0,038
Tr ₂₈ R	3,49	3,80	0,06	0,08	0,77	0,05	-	0,040
Tr ₂₉ S	0,12	0,81	1,06	1,57	0,52	0,05	-	0,021
Tr ₂₉ R	0,28	8,58	0,77	0,09	0,60	0,03	-	0,137
Tr ₃₀ S	4,85	2,65	4,41	0,04	0,31	0,02	-	0,596
Tr ₃₀ R	0,08	1,20	1,68	0,00	0,78	0,03	-	0,192
Tr ₃₁ S	0,06	0,83	-	0,04	0,47	0,04	-	0,013
Tr ₃₁ R	0,10	0,49	-	0,07	0,25	0,04	-	-
Tr ₃₃ S	1,47	2,29	-	0,12	1,34	0,01	-	-
Tr ₃₃ R	1,79	1,02	-	0,09	0,09	0,01	-	-
Tr ₃₄ S	1,77	0,99	-	-	0,62	0,02	-	-
Tr ₃₄ R	0,62	0,46	-	-	0,63	0,02	-	-
Tr ₃₅ S	-	-	-	-	0,08	0,01	-	-
Tr ₃₅ R	-	-	-	-	0,05	0,01	-	-
Tr ₃₆ S	-	-	-	-	-	0,01	-	-
Tr ₃₆ R	-	-	-	-	-	0,01	-	-
Ts	0,58	4,78	0,30	0,20	3,01	0,61	-	0,037

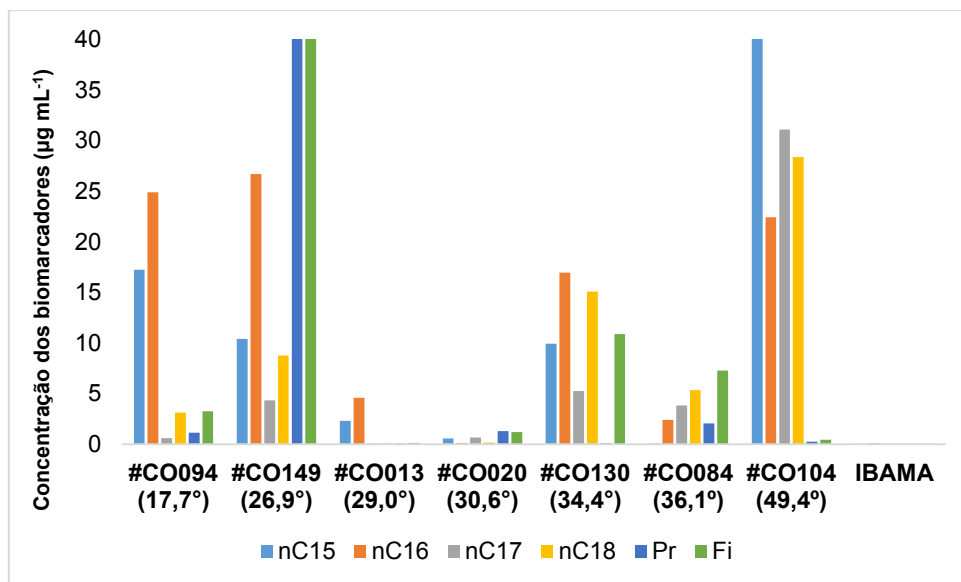
Tm	1,83	24,96	0,18	0,61	9,59	0,38	-	0,019
H₂₉	4,47	72,72	0,79	2,23	8,02	1,75	-	0,056
H₃₀	4,39	98,73	1,20	2,17	0,79	4,18	-	0,062
M₃₀	0,55	11,11	0,10	0,16	2,49	0,29	-	-
H₃₁	0,95	21,23	0,28	0,71	1,63	0,72	-	-
S								
H₃₁	0,57	12,94	0,20	1,39	0,53	0,42	-	-
R								
Gam	0,51	11,97	-	0,15	1,23	0,71	-	-
H₃₂	0,52	3,28	0,20	0,36	0,79	0,45	-	-
S								
H₃₂	0,36	6,74	0,19	0,23	0,52	0,26	-	-
R								
H₃₃	0,28	4,51	0,1	0,15	0,35	0,17	-	-
S								
H₃₃	0,12	-	-	0,1	-	0,11	-	-
R								
H₃₄	-	-	-	-	-	0,07	-	-
S								
H₃₄	-	-	-	-	-	0,03	-	-
R								
H₃₅	-	-	-	-	-	0,05	-	-
S								
H₃₅	-	-	-	-	-	0,01	-	-
S								

Foi observado que a amostra #CO149 com o °API 26,9 apresentou a maior concentração dos 17 α (H),21 β (H)-hopanos, principalmente o H₃₀, comparado as outras amostras. A concentração dos biomarcadores na amostra IBAMA é muito inferior comparado aos outros óleos. Segundo PETERS, WALTERS e MOLDOWAN (2005), o petróleo bruto de um derramamento está mais suscetível a sofrer uma *water washing*, ou seja, uma lavagem com água. Essa lavagem pode levar à diminuição a remoção de alguns hidrocarbonetos (Palmer, 1993), logo a amostra do IBAMA pode ter sofrido esse fenômeno.

Pela análise da **Figura 23**, na qual estão as concentrações de *n*-alcanos (*n*C₁₅, *n*C₁₆, *n*C₁₇, *n*C₁₈) e alcanos ramificados (Pr e Fi), foi identificado uma maior concentração de *n*C₁₅ na amostra de petróleo leve (49,4 °API) em comparação às outras amostras. Além disso, para a amostra #CO149 foi visto uma maior concentração dos alcanos ramificados, principalmente o fitano (Fi). A amostra do IBAMA novamente se assemelhou as amostras com °API intermediário (#CO013 e #CO020), tendo baixas concentrações de *n*C₁₅ (0,003 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *n*C₁₆ (0,08 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

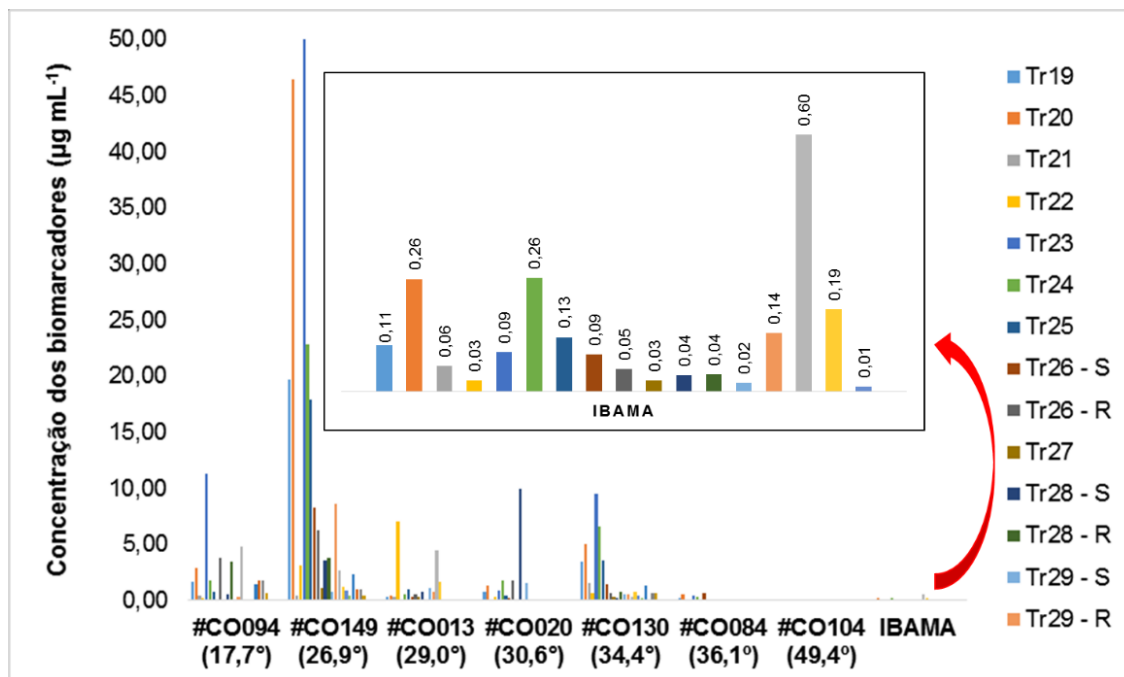
mL^{-1}), $n\text{C}_{17}$ ($0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$), $n\text{C}_{18}$ ($0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$), Pr ($0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$) e Fi ($0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Figura 23. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de $n\text{C}_{15}$, $n\text{C}_{16}$, $n\text{C}_{17}$, $n\text{C}_{18}$, Pr e Fi encontrados nas amostras de petróleo.



Nas concentrações de 17-nor-terpanos tricíclicos, **Figura 24**, é possível observar uma tendência de menores valores conforme há o aumento do $^{\circ}\text{API}$, demonstrando a presença de moléculas de maiores cadeias hidrocarbônicas em petróleos mais pesados. Esse comportamento pode ser visto em relação à concentração do biomarcador Tr_{23} , por exemplo, que na amostra de óleo pesado #CO0149 ($26,9^{\circ}\text{API}$) possui $50,79 \mu\text{g mL}^{-1}$; na amostra intermediária #CO020 ($30,6^{\circ}\text{API}$) possui $0,87 \mu\text{g mL}^{-1}$; na amostra de petróleo leve #CO084 ($36,1^{\circ}\text{API}$) possui $0,47 \mu\text{g mL}^{-1}$; e na amostra com o maior $^{\circ}\text{API}$, #CO104, não foi possível semiquantificar nenhum biomarcador 17-nor-terpanos tricíclicos. Já a amostra fornecida pelo IBAMA apresentou concentrações dos terpanos tricíclicos com valores abaixo dos obtidos nas demais amostras.

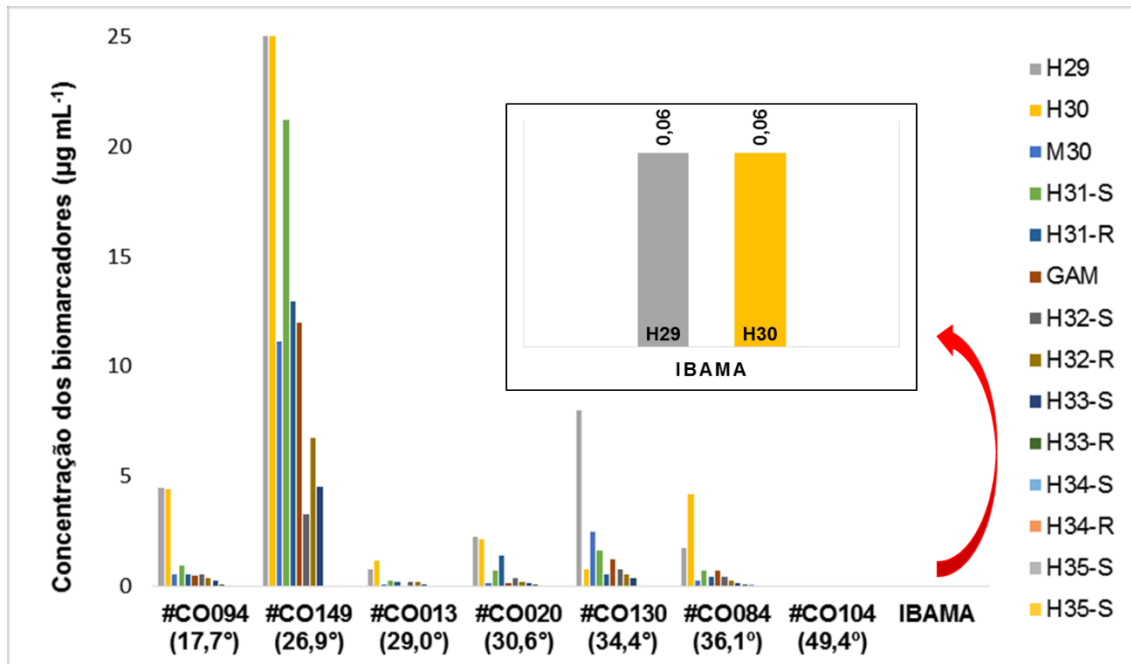
Figura 24. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$), de 17-nor-terpanos tricíclicos encontrados nas amostras de petróleo.



A amostra leve #CO104 e a amostra do IBAMA, podem ter sofrido uma lavagem de água, ou seja, uma solubilização, justificando as baixas concentrações. Como discutido anteriormente a amostra oriunda do derramamento de petróleo em 2019, pode ter solubilizado por ter permanecido em mar aberto por um tempo até chegar na costa brasileira. Enquanto na amostra #CO104, a solubilização pode ter ocorrido no reservatório de origem, pois a solubilidade aquosa da maioria das espécies de hidrocarbonetos aumenta com o acréscimo da temperatura (PRICE, 1976; LAFARGUE e BARKER, 1988), então como a temperatura é mais alta em reservatórios mais profundos, pode ser um indício que este óleo pertence a um reservatório de águas profundas.

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 25**). Por exemplo, a concentração de H_{30} na amostra #CO0149 (26,9 $^{\circ}\text{API}$) é de $98,73 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto para a amostra intermediária #CO020 (30,6 $^{\circ}\text{API}$) é de $2,17 \mu\text{g mL}^{-1}$ e na #CO130 (34,4 $^{\circ}\text{API}$) é de $0,79 \mu\text{g mL}^{-1}$. Novamente a amostra do IBAMA apresentou valores de concentração abaixo das demais amostras.

Figura 25. Concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ -hopanos encontrados nas amostras de petróleo.



4.4 GC \times GC-TOFMS: Parâmetros Geoquímicos

Os parâmetros geoquímicos trazem informações sobre a origem do petróleo, como a maturidade térmica, biodegradação e o paleoambiente deposicional (WANG *et al.*, 2006). Tendo como base as áreas obtidas de cada biomarcador, foi possível estabelecer uma relação dos parâmetros geoquímicos para cada amostra (**Tabela 13**).

Tabela 13. Parâmetros geoquímicos calculados para cada amostra de petróleo.

Amostra	#CO94	#CO149	#CO13	#CO20	#CO130	#CO84	#CO104	IBAMA
°API	17,70	26,90	29,00	30,60	34,40	36,10	49,40	-
C ₁₇ /C ₁₈	0,20	0,49	0,49	4,64	0,35	0,71	1,10	0,50
Pr/Fi	0,35	0,13	0,45	1,08	0,01	0,28	0,55	2,00
Pr/C ₁₇	1,87	31,54	1,06	1,98	0,02	0,54	0,01	2,00
C ₁₇ /Pr	0,53	0,03	0,94	0,50	65,63	1,87	129,58	0,50
Fi/C ₁₈	1,05	117,35	1,08	8,50	0,72	1,36	0,02	0,50
C ₁₈ /Fi	0,95	0,01	0,93	0,12	1,39	0,73	64,48	2,00
Ts/Tm	0,32	0,19	1,66	0,33	0,31	1,61	-	1,95
Ts/ (Ts+Tm)	0,24	0,16	0,63	0,25	0,24	0,61	-	0,17
Ts/ H ₃₀	0,13	0,05	0,25	0,09	3,81	0,15	-	0,07
H ₃₁ S/ (R+S)	0,63	0,62	0,58	0,34	0,75	0,63	-	-
H ₃₂ S/ (S+R)	0,59	0,33	0,51	0,61	0,60	0,63	-	-
H ₃₃ S/ (S+R)	0,70	-	-	0,60	-	0,59	-	-
Gam/ H ₃₀	0,12	0,12	-	0,07	1,56	0,17	-	-
H ₂₉ / H ₃₀	1,02	0,74	0,66	1,03	10,15	0,42	-	1,00

A razão Pr/Fi é indicativo da presença de oxigênio no paleoambiente deposicional. As razões Pr/nC₁₇ e Fi/nC₁₈ são utilizadas para avaliar o grau de biodegradação, sendo que, razões com valores acima de 1 indica que o óleo foi biodegradado. Outro parâmetro bastante utilizado é o grau de maturidade térmica de óleos representado pela razão H₂₉/H₃₀, e quanto maior for essa razão, maior será a maturidade térmica. A biodegradação é a alteração microbiana dos petróleos. A ação dos microrganismos sobre os hidrocarbonetos ocorre de modo seletivo no reservatório, uma vez que os *n*-alcanos são mais suscetíveis ao ataque de microrganismos do que os alcanos ramificados, cicloalcanos e aromáticos (PETERS, WALTERS e MOLDOWAN, 2005). Assim, ao observar a **Tabela 13**, tem-se Pr/C₁₇ com valores entre 0,01 e 31,54, enquanto Fi/C₁₈ tem valores entre 0,02 e 117,35. As amostras #CO094, #CO149, #CO020 e #CO013 apresentaram a relação Pr/C₁₇>1 e Fi/C₁₈>1, indicativo de óleo biodegradado. Dentre elas, a amostra #CO149 apresentou os maiores valores dos parâmetros Pr/C₁₇ (31,54) e Fi/C₁₈ (117,35), sendo possível propor que essa seja a amostra de maior biodegradação. Por outro lado, as amostras #CO130, #CO104

apresentaram as relações Pr/C_{17} e Fi/C_{18} menor que 1, a amostra #CO084 apresentou uma relação $Pr/C_{17}<1$ e $Fi/C_{18}>1$ e a amostra do IBAMA uma relação $Pr/C_{17}>1$ e $Fi/C_{18}<1$. Assim, essas amostras podem ser consideradas não biodegradadas ou de baixa biodegradação a partir dessas razões. Essa distribuição de biodegradação já era esperada quando, segundo CRUZ e MARSALOLI (2012), ao final do processo de biodegradação os hidrocarbonetos são transformados em metabólitos (CO_2 e ácidos orgânicos) levando a uma diminuição do teor de hidrocarbonetos saturados e do $^\circ API$, aumentando assim a sua densidade, ou seja, óleos pesados à intermediários tendem a ser biodegradados em relação aos óleos leves.

Já os parâmetros Ts/Tm e Gam/H_{30} trazem informações sobre a salinidade do ambiente deposicional. No primeiro parâmetro, as amostras #CO013, #CO084 e #IB014 (IBAMA) mostraram valores acima de 1, indicando sua origem em um ambiente carbonático, enquanto os restantes das amostras apresentaram a razão menor que 1 (entre 0,19 e 0,33), indicando a origem em ambiente deposicional hipersalino. A razão Gam/H_{30} também é um indicativo para a salinidade do ambiente, e quanto maior for a razão, mais salino é o ambiente deposicional. Isso porque há alta abundância de gamacerano em sedimentos e rochas sedimentares ricos em matéria orgânica e salino (HOLBA *et al.*, 2000). Os valores obtidos para essa razão (Gam/H_{30}), entre 0 e 1,56, corroboram com a informação da origem da maior salinidade das amostras #CO130, #CO084 #CO149, #CO094 e #CO020. A ausência da presença do biomarcador gamacerano nas amostras #CO013 e #IB14 para o método proposto pode ser um indicativo da baixa salinidade do ambiente, assinalando conseqüentemente que essas amostras podem ter origem de um ambiente deposicional carbonático.

A maturidade do sedimento formador do petróleo pode ser obtida pelo parâmetro $Ts/(Ts+Tm)$, dado que o isômero Ts é mais estável termodinamicamente (VECCHIA, 2009). Logo, é esperado que a concentração do isômero Ts seja maior do que Tm quanto mais antigo for o sedimento formador. Quando a razão $Ts/(Ts+Tm)$ é maior que 0,6 significa que a origem do sedimento é madura, com isso a amostra #CO013 ($^\circ API$ 29,0) e #CO084 ($^\circ API$ 36,1), que possui esta razão respectivamente de 0,63 e 0,61, vêm de um sedimento que é considerado maduro. Em contrapartida, as demais amostras apontam origem em sedimento

recente, uma vez que suas razões entre os isômeros Ts e Tm estão abaixo de 0,4.

Já a maturidade térmica descreve as mudanças que tem sofrido a matéria orgânica e o grau de sua conversão em hidrocarbonetos com o aumento da temperatura, sendo o parâmetro H_{29}/H_{30} um indicador dessa maturidade. Quanto maior a razão H_{29}/H_{30} , maior será a maturidade térmica do óleo. Desse modo, a amostra leve #CO130 ($^{\circ}$ API 34,4), apresentou o maior valor de maturidade térmica (10,15), enquanto as demais amostras apresentaram valores entre 0,42 e 1,03.

A **Tabela 14** resume as informações as informações obtidas a partir do estudo por meio dos parâmetros geoquímicos.

Tabela 14. Relação de parâmetros geoquímicos utilizados para obter informações sobre a origem, maturidade térmica e biodegradação do petróleo de cada amostra analisada.

Parâmetro Geoquímico	Parâmetro	Informação	Amostras
Pr/Fi	< 1	Ambiente deposicional anóxico	#CO130 #CO149 #CO084 #CO094 #CO013 #CO104
	> 1	Ambiente deposicional óxido	#CO020 #IB014
Pr/nC₁₇ e Fi/nC₁₈	Pr/nC ₁₇ >1 e Fi/nC ₁₈ >1	Óleo biodegradado	#CO149 #CO020 #CO013 #CO104
	Pr/nC ₁₇ >1 e Fi/nC ₁₈ <1	Óleo não biodegradado ou de baixa biodegradação	#CO084 #IB014
	Pr/nC ₁₇ <1 e Fi/nC ₁₈ <1	Óleo não biodegradado	#CO094 #CO130

Ts/Tm	< 1	Origem em ambiente hipersalino	#CO094 #CO149 #CO020 #CO130
	> 1	Origem em ambiente carbonático	#CO013 #CO084 #IB014
Ts/ (Ts+Tm)	> 0,6	Origem se sedimento maduro	#CO013 #CO084
	0,4 < x < 0,6	Origem de sedimento de maturidade intermediária	
	< 0,4	Origem de sedimento recente	#CO149 #CO094 #CO020 #CO130 #IB014
Ts/H₃₀		Quanto maior a razão, maior a maturidade térmica	#CO149> #IB14> #CO020> #CO094> #CO084> #CO013> #CO130
Gam/H₃₀		Quanto maior a razão, mais salino o ambiente deposicional	#CO020> #CO094> #CO149> #CO084> #CO130
H₂₉/H₃₀		Quanto maior a razão, maior a maturidade térmica	#CO084> #CO013> #CO149> #IB014> #CO094> #CO020> #CO130

4.5. ESI(±)-Orbitrap-HRMS

4.5.1. Petróleo Bruto e Frações dos Polares

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 e na fração de polares obtidas pelo fracionamento. 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 26** estão apresentados os espectros de massas das amostras de petróleo bruto e da fração dos polares analisadas no modo positivo, ESI(+), e na **Figura 27** são mostrados as amostras analisadas no modo negativo, ESI(-). 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 de massas possuem menor intensidade, porém são mais ricos em informações químicas em termo de classes existentes nas amostras, como os compostos com caráter ácido.

Figura 26. Espectros de massas de amostras de petróleo bruto e fração de polares obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.

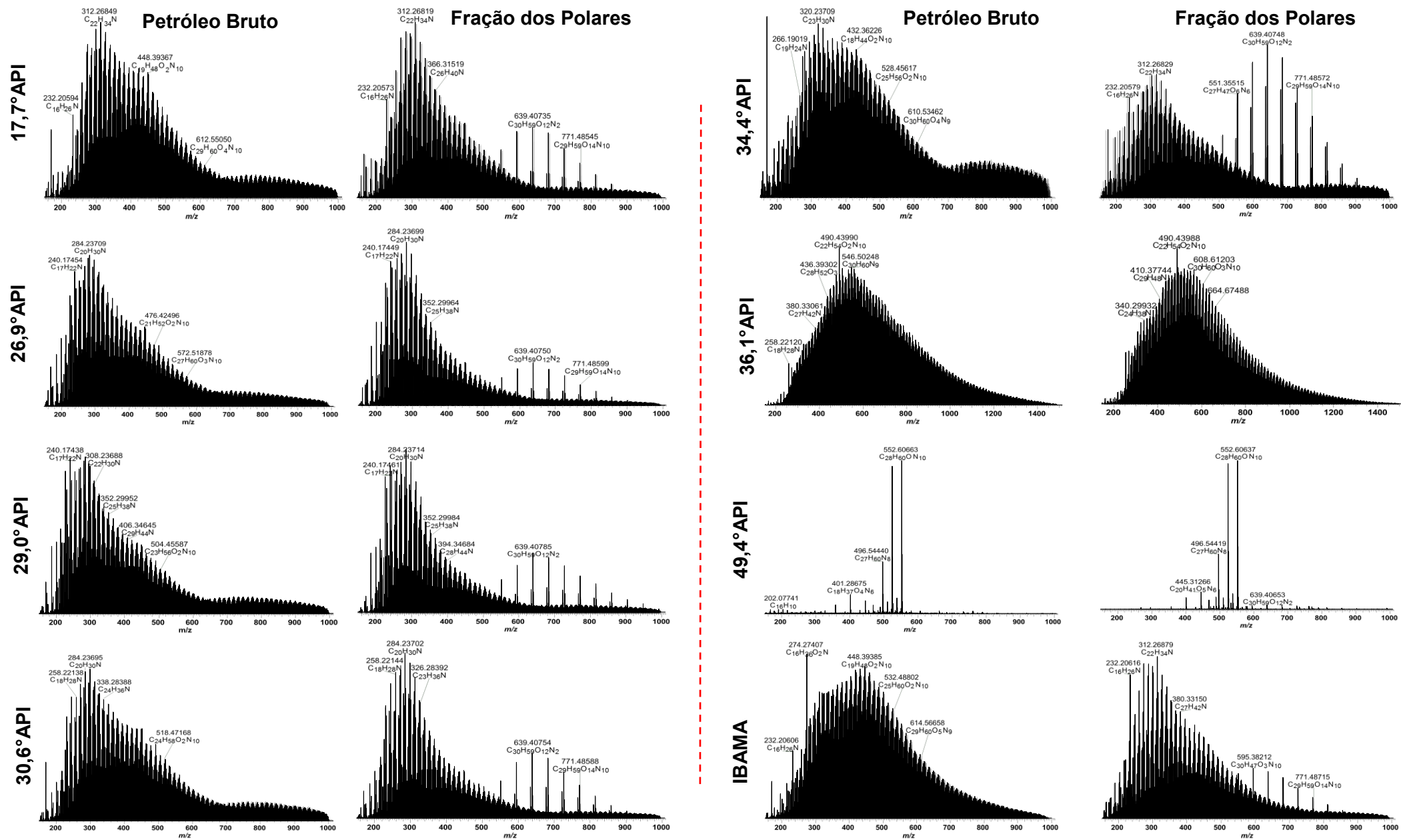
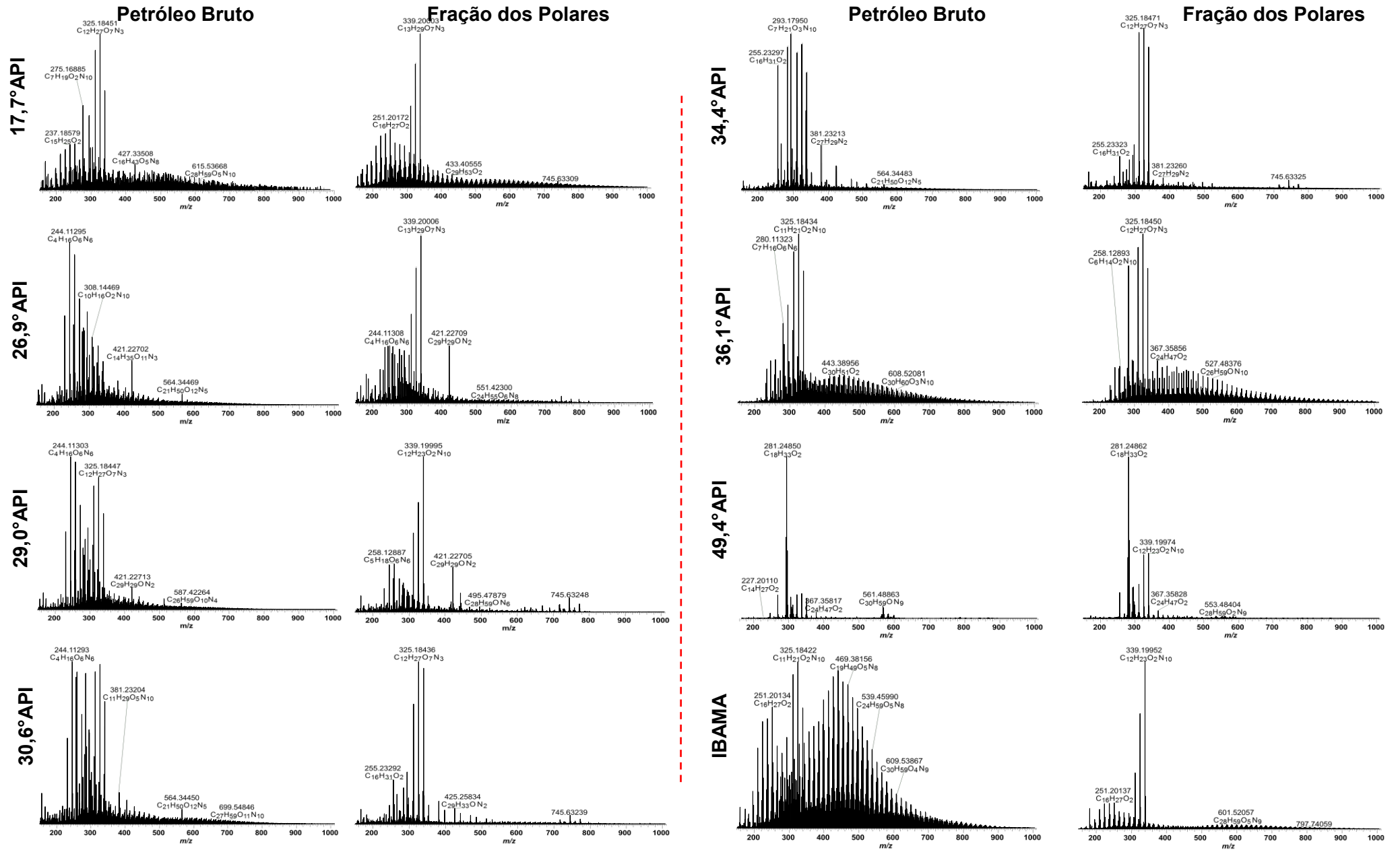


Figura 27. Espectros de massas de amostras de petróleo bruto e fração de polares obtidos por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.



A **Tabela 15** mostra o número de substâncias detectadas por HRMS nos modos de ionização positivo e negativo. Os óleos pesados apresentaram cerca de 11 mil analitos no modo positivo e entre 15 e 16 mil analitos no modo negativo. Já as amostras de °API intermediário tiveram no modo positivo cerca 10 mil analitos, e entre 14 e 15 mil analitos no modo negativo. Os petróleos leves indicaram entre 11 e 14 mil analitos no modo positivo e entre 12 a 15 mil no negativo. A amostra do IBAMA (#IB014) obteve cerca de 13 mil analitos tanto nos modos positivo e negativo. É importante ressaltar que esses números de analitos encontrados não são absolutos, uma vez que alguns analitos são identificados nos dois modos de ionização.

Tabela 15. Número de substâncias detectadas nas amostras de petróleo bruto pela técnica de ESI(±)-Orbitrap-HRMS utilizando o programa XCalibur.

Amostra	°API	Petróleo Bruto		Fração dos Polares	
		ESI (+)	ESI (-)	ESI (+)	ESI (-)
#CO094	17,7	10566	16144	9658	16750
#CO149	26,9	10691	15072	12747	15820
#CO013	29,0	10231	14834	9293	17195
#CO020	30,6	10589	15120	9894	15013
#CO130	34,4	11545	15171	6571	18642
#CO084	36,1	13317	15536	11996	15982
#CO104	49,4	14818	11932	7528	12599
IBAMA	*	12837	12632	14158	12285

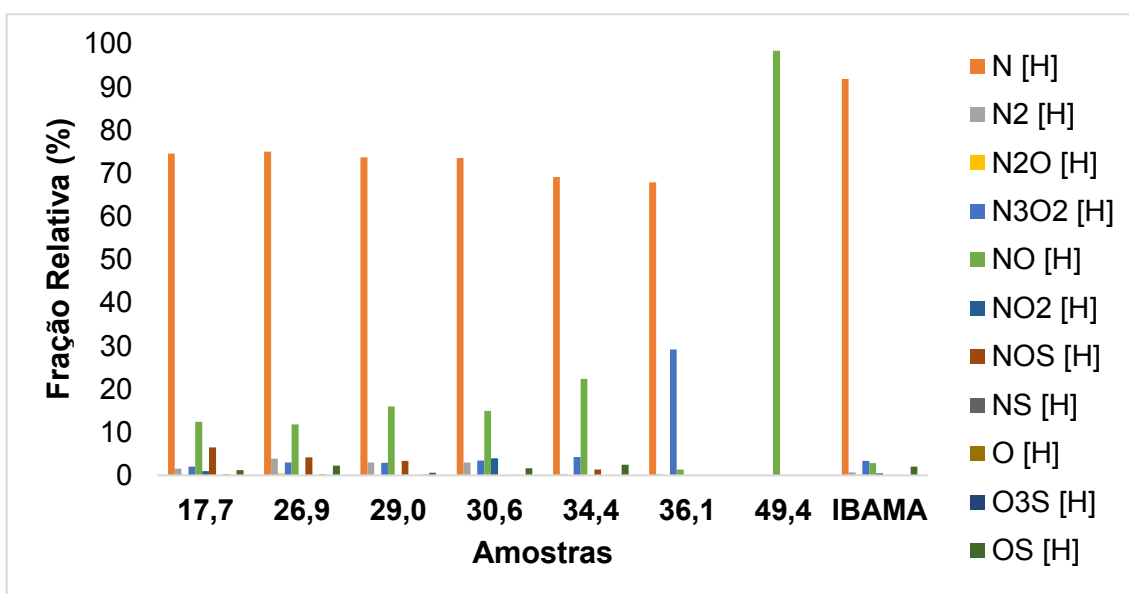
*não informado

A análise pela técnica Orbitrap-HRMS traz também informações sobre a distribuição de classes existentes nas amostras de petróleo, utilizando o programa Composer. É possível obter a intensidade relativa de cada classe a partir da intensidade total dos grupos homólogos. A **Figura 28** apresenta o perfil de distribuição de classes das amostras de petróleo bruto obtido no modo ESI(+). Observa-se a maior abundância relativa da classe dos nitrogenados [N] em grande parte das amostras, com 74,7% na amostra #CO094 (17,7 °API); 75,1% em #CO149 (26,9 °API); 73,7% em #CO013 (29,0 °API); 73,6% em #CO020 (30,6 °API); 69,2% em #CO130 (34,4 °API); 67,9% em #CO084 (36,1 °API); e com destaque para a amostra do IBAMA que apresentou 91,9% de N[H]. A

amostra #CO104 não apresentou a classe dos nitrogenados N[H], somente a classe NO[H] com uma fração relativa de 98,4%.

COVAS *et al.* (2019) também observou uma distribuição de classes parecida, em que uma amostra apresentou uma dominância da classe química NO. Segundo eles, esse fato pode ter ocorrido devido à baixa quantidade de compostos contendo N liberado no petróleo, isso explicaria o motivo que nenhum composto N foi detectado na amostra #CO104. Assim, como a maturidade térmica está relacionada com compostos contendo N, ela influencia significativamente na distribuição dos constituintes, já que à medida que o nível de maturidade aumenta, os compostos contendo NO são destruídos e compostos básicos de nitrogênio são preferencialmente formados. Sendo assim, essa análise realizada por COVAS *et al.* (2019) indica que a amostra #CO104 é imatura, ou seja, possui baixa maturação térmica.

Figura 28. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.



Na **Tabela 16** é visto a fração relativa da classe N[H] em cada uma das amostras tanto para a fração do petróleo bruto quanto para a fração dos polares.

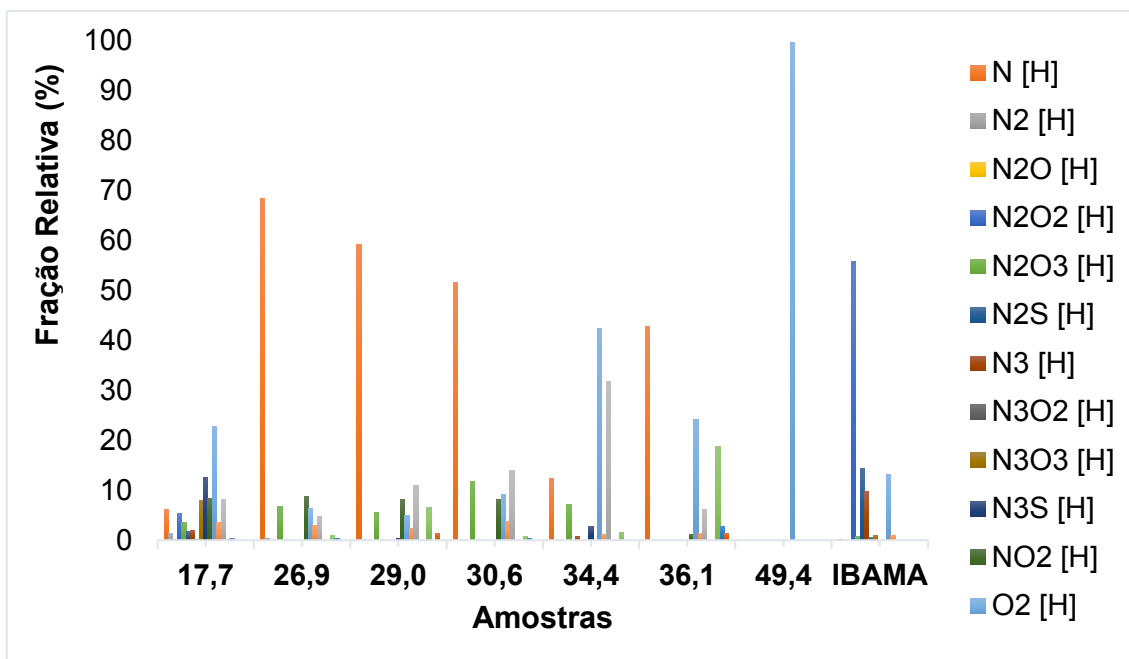
Tabela 16. Distribuição da classe dos nitrogenados N [H] para as amostras de petróleo bruto e fração dos polares.

Amostras	°API	Fração Relativa de N [H] (%)	
		Petróleo Bruto	Fração dos Polares
#CO094	17,7	74,64	78,40
#CO149	26,9	75,18	82,83
#CO013	29,0	73,73	82,86
#CO020	30,6	73,43	82,59
#CO130	34,4	69,21	72,64
#CO084	36,1	67,93	77,99
#CO104	49,4	0	0
IBAMA	*	91,87	84,82

*Não Informado

No modo ESI(-), o perfil de distribuição de classes das amostras pode ser visto na **Figura 29**. Observa-se que a classe [N] é a mais abundante em 4 amostras, #CO149 (°API 26,9), #CO013 (°API 29,0), #CO020 (°API 30,6) e #CO084 (°API 36,1), sendo que na amostra pesada, 17,7 °API, a classe majoritária foi a [O₂], e a amostra do IBAMA apresentou a maior fração de [N₂O₂]. Esses resultados também foram observados nas amostras do pré-sal brasileiro estudadas por FRANÇA *et al.* (2021), onde no modo de ionização negativa é esperado um enriquecimento na classe [N] em óleos de origem lacustre, indicando assim que as amostras #CO149 (°API 26,9), #CO013 (°API 29,0), #CO020 (°API 30,6) e #CO084 (°API 36,1) possuem origem lacustre. Enquanto a amostra leve, #CO104 com °API 49,4, apresentou a classe dos oxigenados a mais abundante [O₂], indicando novamente a sua baixa maturação térmica.

Figura 29. Perfil de distribuição de classes químicas das amostras de petróleo bruto obtidas por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.



A abundância da classe de $[O_2]$ 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). Ao analisar a **Figura 29** em relação a classe de $[O_2]$ é visto que ocorre uma variação da fração dessa classe de 4,96% a 99,56%, indicando assim que a amostra #CO013 com 4,96% de $[O_2]$, possui uma baixa biodegradação, enquanto a amostra #CO104 com 99,56% de $[O_2]$ indica ter uma alta biodegradação. No entanto, de acordo com os parâmetros geoquímicos $Pr/C_{17} > 1$ e $Fi/C_{18} > 1$ (ALVES *et al.*, 2018) que indicam biodegradação do óleo, esta amostra não se comportaria como biodegradada.

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 30**), que possui a classe dos nitrogenados [N] como a mais abundante, foram identificadas substâncias variando em termos de número de carbonos de C_{13} - C_{63} , com maior abundância dos compostos nitrogenados no DBE entre 5-9 na amostra de 17,7 °API, enquanto na de 26,9 °API o número de carbonos varia entre C_{10} - C_{60} , com DBE entre 5-9. Nos óleos de °API intermediários, há substâncias entre C_{11} - C_{53} e C_{11} - C_{57} , com DBE entre 5-10 e 5-9, para as amostras de 29,0 °API e 30,6 °API,

respectivamente. Já nas amostras leves de 34,4 °API, 36,1 °API e 49,4 °API, o número de carbonos se encontra de C₁₁-C₇₀, C₁₅-C₆₈ e C₂₀-C₅₄, com DBE entre 6-12, 5-10 e 0-1, respectivamente. A amostra do IBAMA variou de C₁₂-C₆₆, com DBE entre 6-12.

No modo negativo (**Figura 31**), no qual classe dos oxigenados [O₂] é a mais abundante, o gráfico de DBE×C das amostras de petróleo pesado tem substâncias variando de C₁₀-C₄₂, DBE entre 3-4 na amostra de 17,7 °API, enquanto no óleo de 26,9 °API o número de carbonos varia entre C₁₁-C₃₀, com DBE entre 0,5-2. Nas amostras intermediárias, há substâncias entre C₁₁-C₂₇, com DBE entre 1-2 na amostra de 29,0 °API, e C₁₁-C₃₅ com DBE entre 0,5-2 na amostra de 30,6 °API. Nas amostras leves, de 34,4 °API, 36,1 °API e 49,4 °API, o número de carbonos se encontra respectivamente de C₁₂-C₃₅, C₁₄-C₆₀ e C₁₅-C₄₂, com DBE entre 1-2, 1-6 e 3-4. Por último, na amostra do IBAMA, há substâncias entre C₁₂-C₅₂, com DBE entre 3-4.

Ao fim dessas análises por HRMS, foi observado que para as frações dos polares no ESI(-) foi possível identificar mais analitos que na análise do petróleo bruto, mostrando assim a eficiência em realizar o fracionamento em coluna do óleo cru para realizar a análise por ESI(-)-Orbitrap-HRMS. Enquanto para a análise por ESI(+)-Orbitrap-HRMS, a fração dos polares não demonstrou tamanha aplicabilidade já que no geral foi observado uma baixa identificação de substâncias comparado com a do petróleo bruto.

Figura 30. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias nitrogenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.

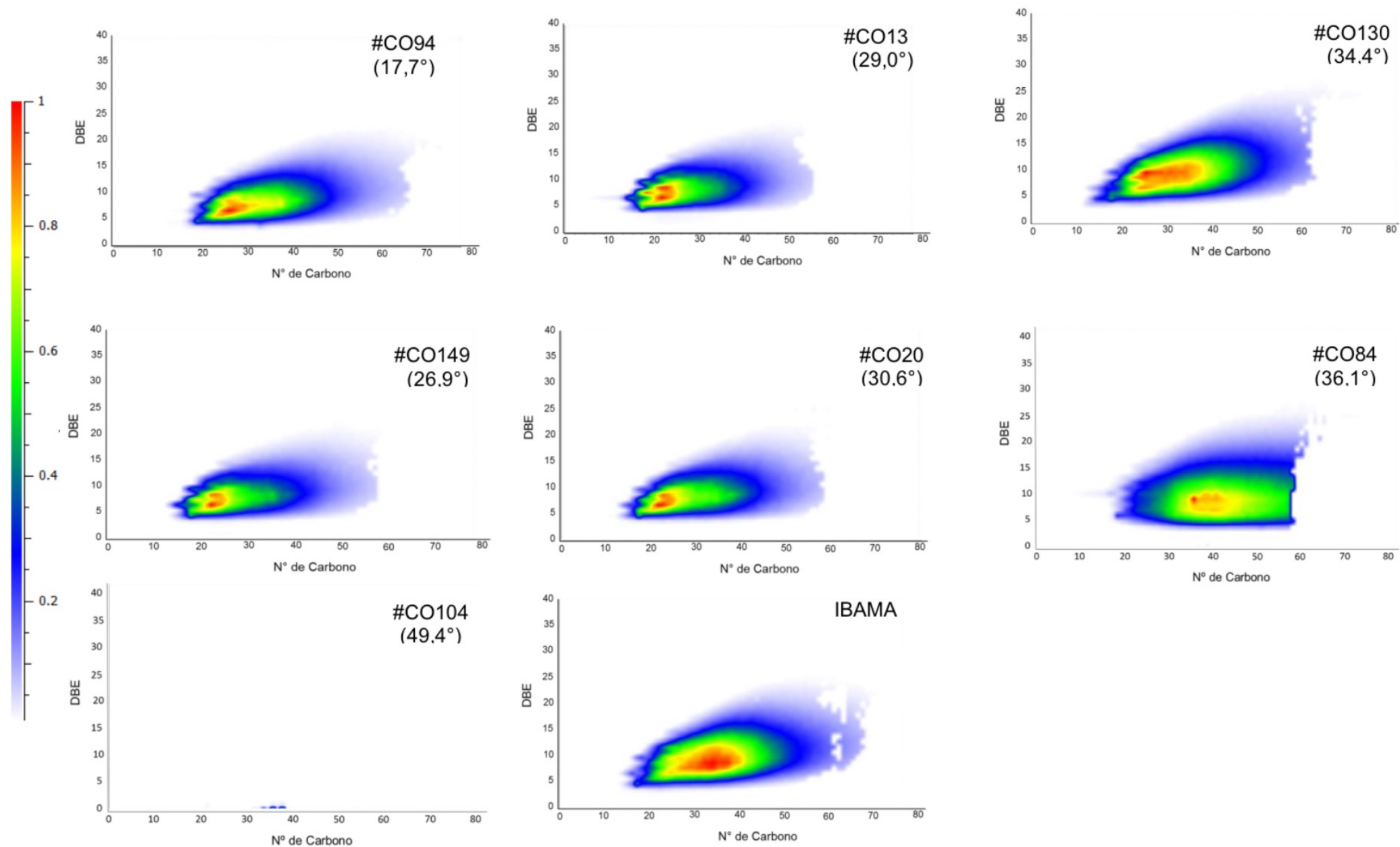


Figura 31. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias oxigenadas presentes nas amostras de petróleo bruto, obtidos por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.

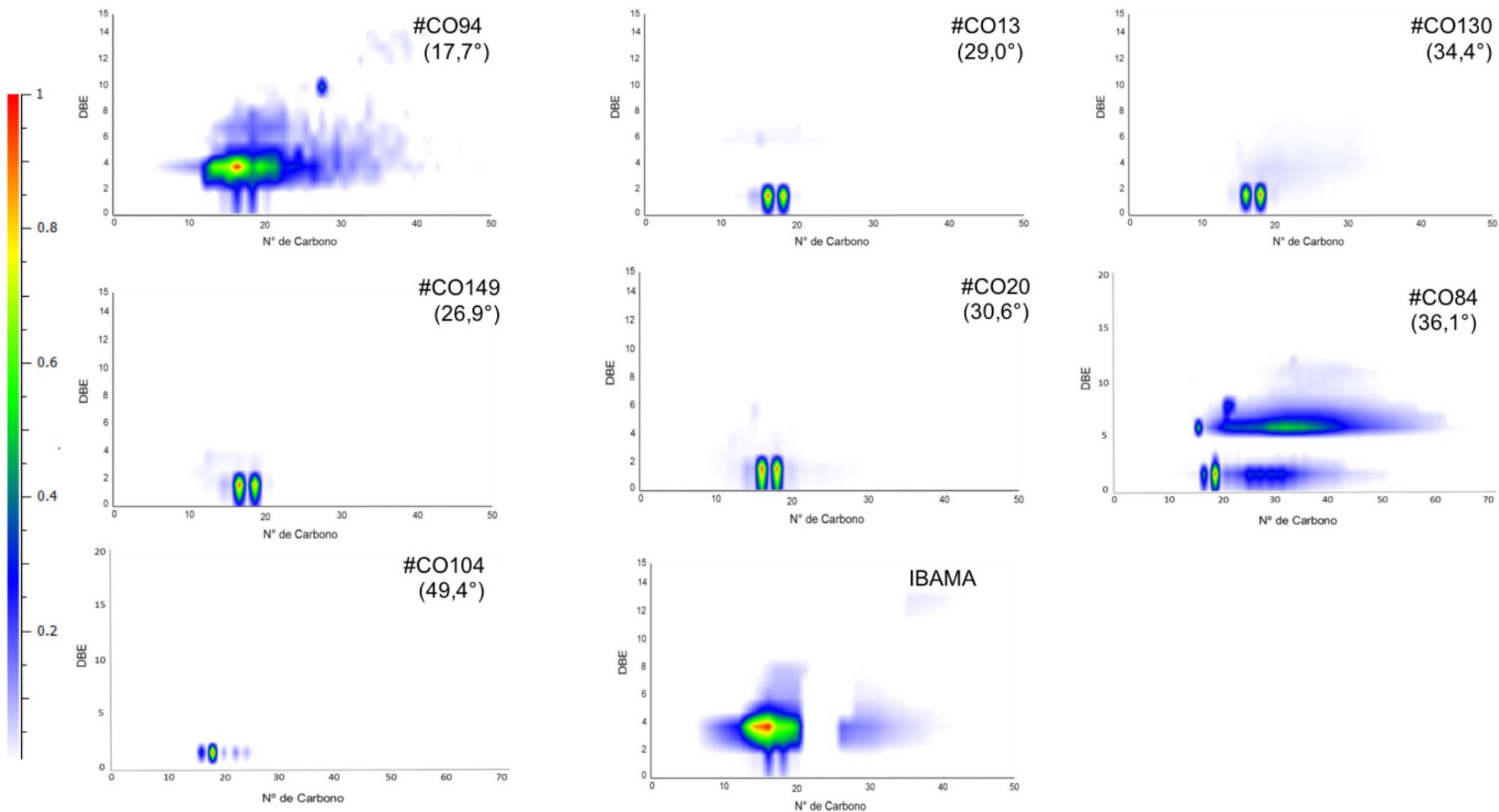


Figura 32. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias nitrogenadas presentes nas frações dos polares de cada amostra, obtidos por ESI(+)-Orbitrap-HRMS.

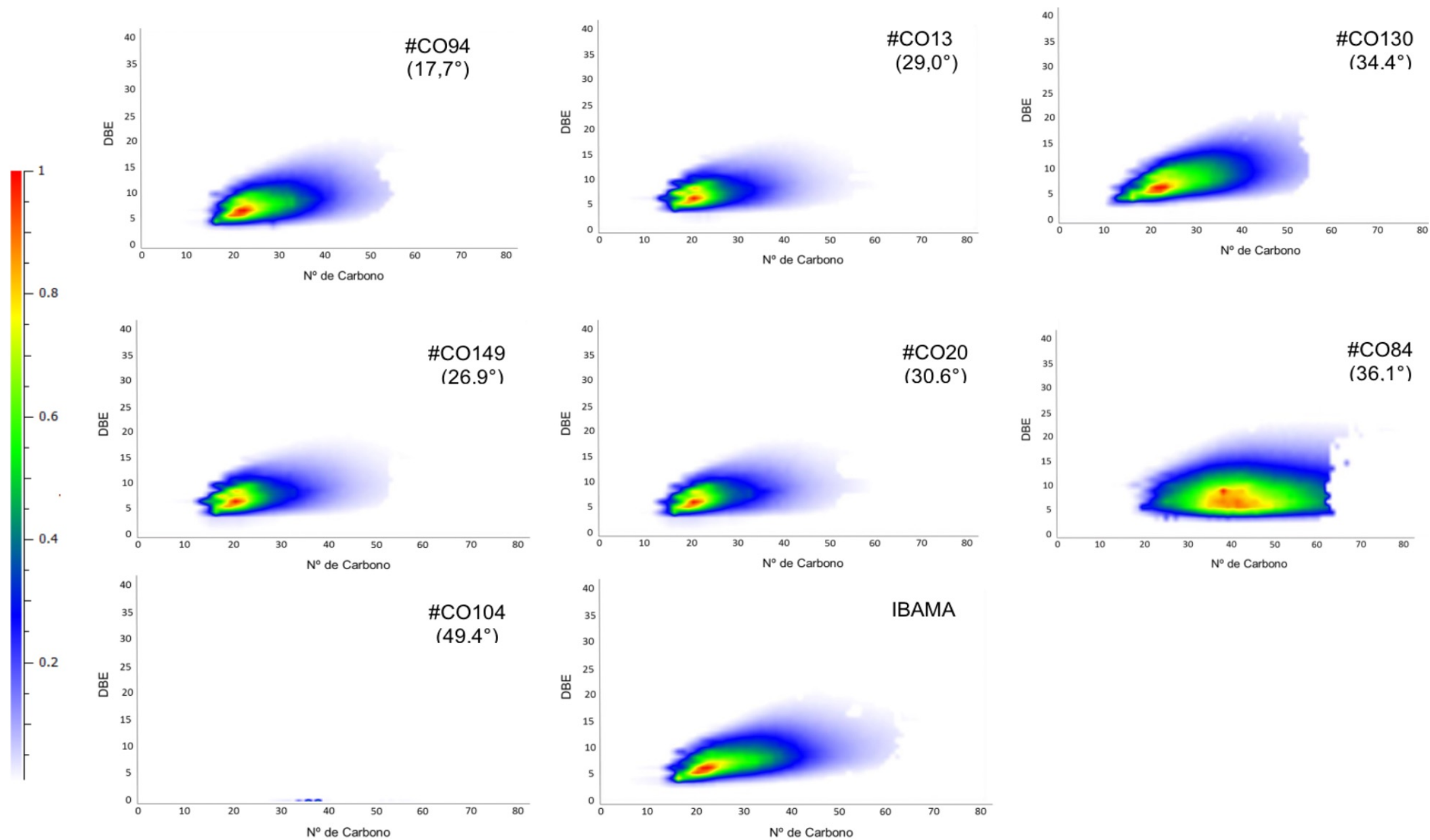
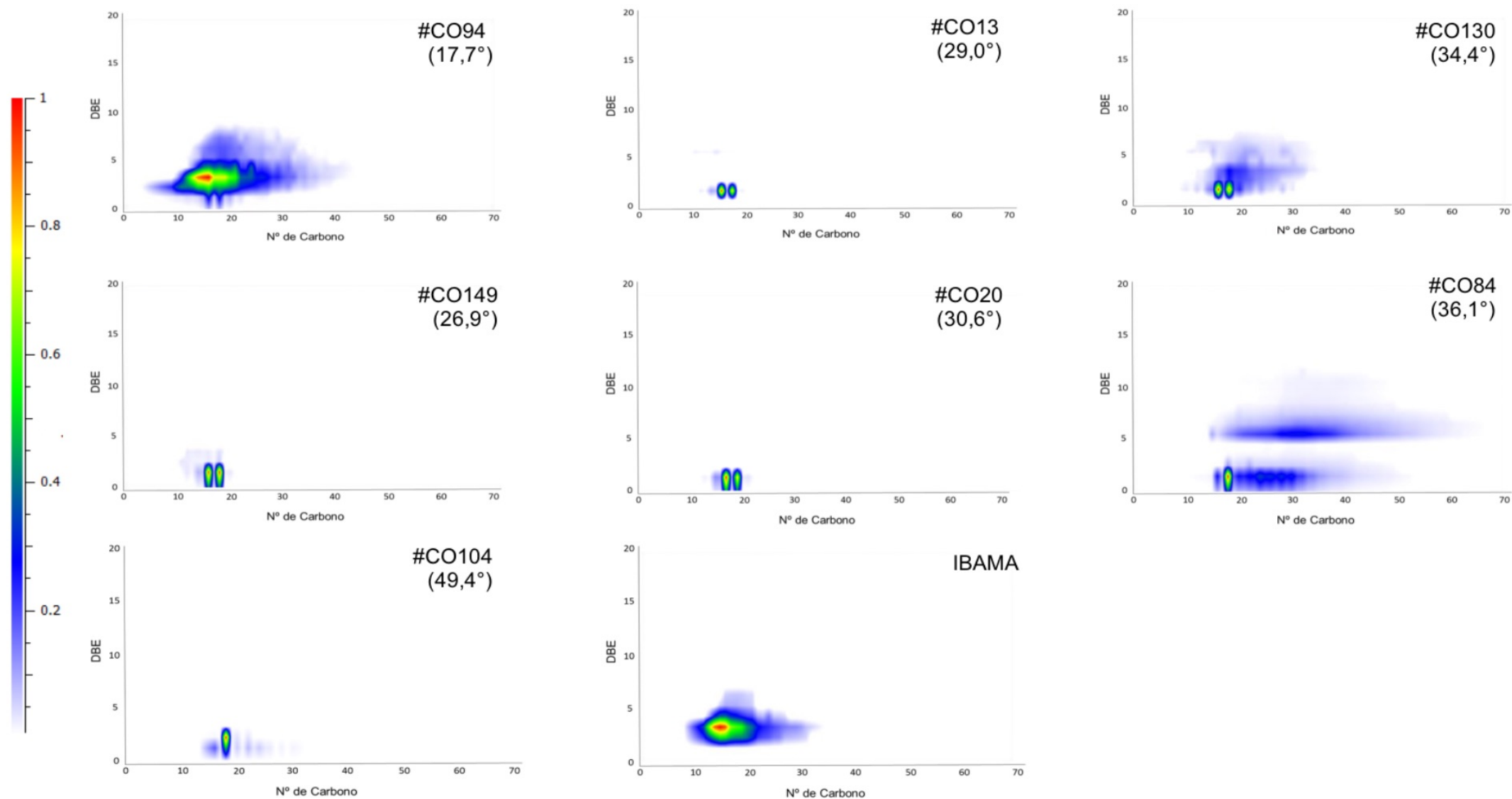


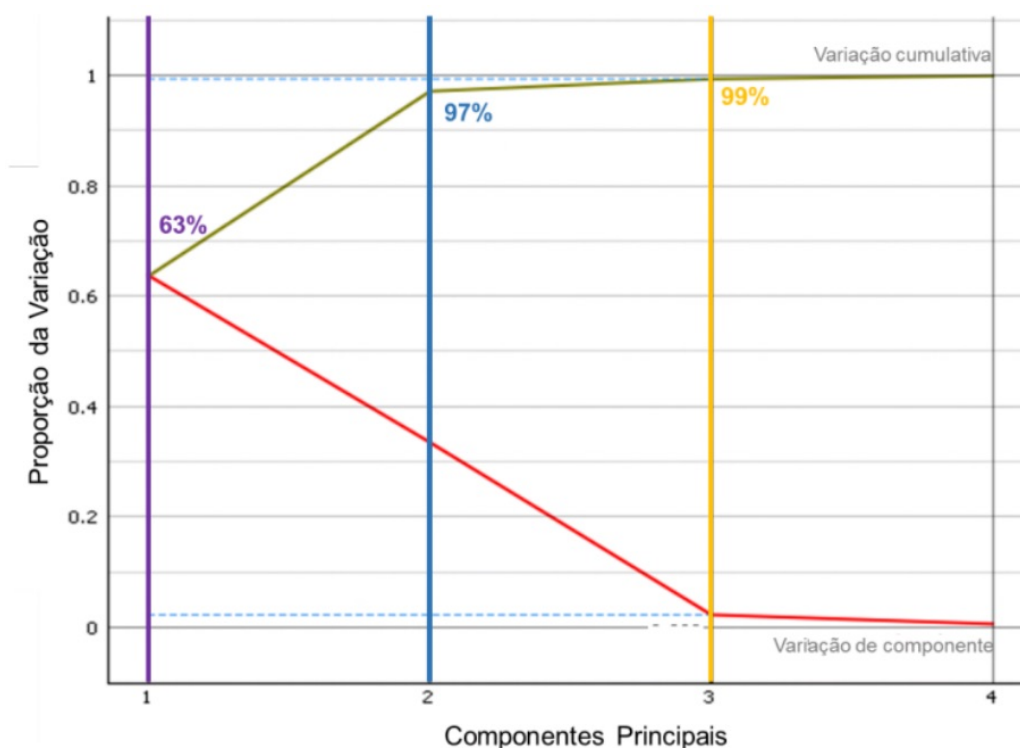
Figura 33. Gráficos de DBE×C para a classe das substâncias oxigenadas presentes nas frações dos polares de cada amostra, obtidos por ESI(-)-Orbitrap-HRMS.



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

A análise quimiométrica foi realizada a partir dos dados obtidos do GC×GC-TOFMS da fração de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados para realizar uma melhor comparação entres os parâmetros geoquímicos. O método quimiométrico utilizado foi a análise do componente principal (PCA), no qual foi possível examinar as relações que podem existir entre as amostras analisadas. É apresentado na **Figura 34** o gráfico do PCA, levando em consideração dez parâmetros geoquímicos, C_{17}/C_{18} , Pr/Fi , Pr/C_{17} , C_{17}/Pr , Fi/C_{18} , C_{18}/Fi , Ts/Tm , $Ts/(Ts+Tm)$, Ts/H_{30} , H_{29}/H_{30} , os quais foram escolhidos por estarem presentes em todas as amostras, permitindo assim uma melhor correlação.

Figura 34. Gráfico de PC versus a proporção da variação para PC₁, PC₂ e PC₃ parâmetros geoquímicos das amostras de petróleo.

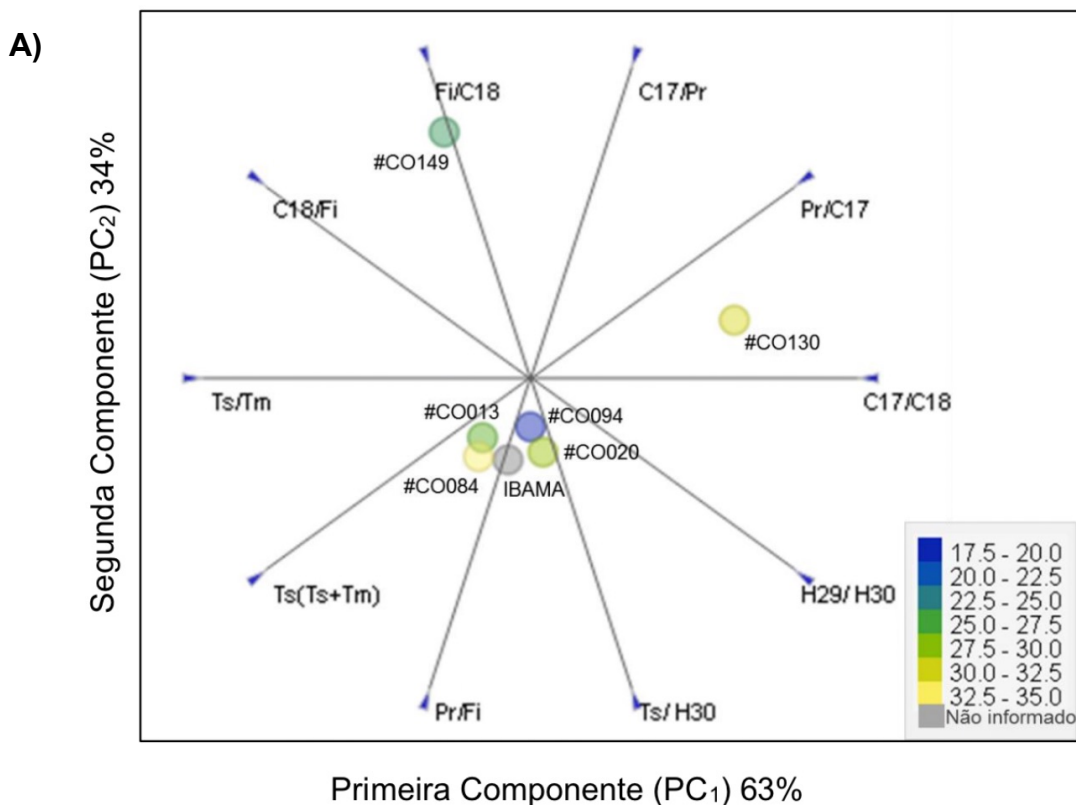


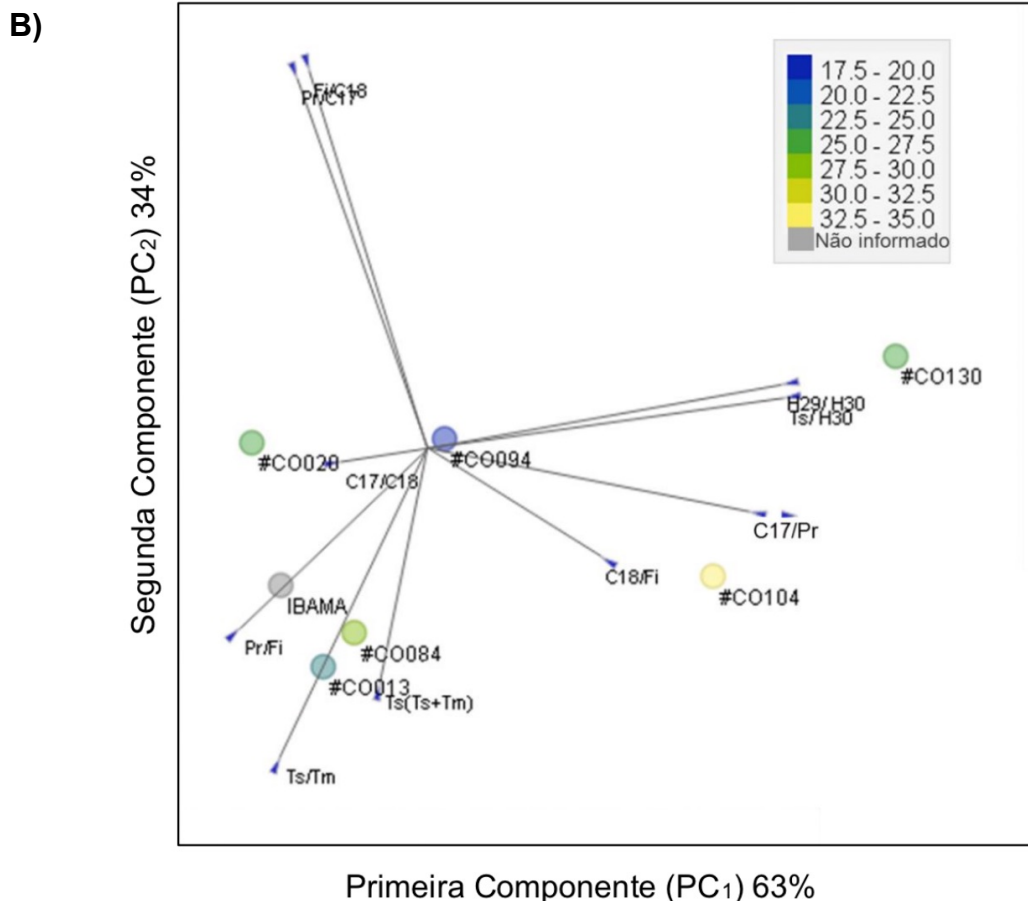
O gráfico de componentes principais (PC) por proporção da variação mostra que um componente principal (PC₁) representa 63% da variância da matriz. Já a variância acumulada PC₁+PC₂ corresponde a 97% da matriz, sendo mais representativa do que somente PC₁. Assim, o PC₁+ PC₂+ PC₃ que representa

99% é o mais significativo, logo o PC₃ caracteriza a maior variação cumulativa e a variação dos componentes.

Enquanto a **Figura 35A-B** representa um gráfico com os dez parâmetros geoquímicos, no qual as cores dos pontos apresentados representam os diferentes °API das amostras de petróleo, de forma a facilitar a visualização e interpretação do gráfico.

Figura 35. (A) Gráfico relacionando os dez parâmetros geoquímicos para todas as amostras de petróleo em uma colocação circular. **(B)** Gráfico relacionando os dez parâmetros geoquímicos pela análise do componente principal.





É observado que os parâmetros geoquímicos Pr/C₁₇ e Fi/C₁₈ possuem uma alta correlação direta. Já o parâmetro Ts/(Ts+Tm) possui um vetor na mesma direção só que com sentido oposto, indicando uma correlação inversa entre este com os parâmetros de biodegradação, ou seja, quando há um aumento da razão Pr/C₁₇ e Fi/C₁₈, haverá um decréscimo da razão Ts/(Ts+Tm). Essa informação pode ser observada ao analisar a amostra pesada #CO149, que demonstra ter um alto índice de biodegradação e baixo índice de maturidade térmica do sedimento. Ao analisar os gráficos, é possível observar a proximidade da amostra do IBAMA com a amostra #CO013 e #CO084, de petróleo intermediário e petróleo leve, o que é uma indicação que a amostra do IBAMA disponibilizada envolvida no derramamento de petróleo no nordeste brasileiro tende a ser de óleo com °API intermediário mais próximo do leve.

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, sendo fundamentais para realizar uma avaliação química molecular de 8 amostras com diferentes características físico-químicas, com destaque para a amostra do derramamento no nordeste brasileiro em 2019, de maior complexidade.

A técnica GC×GC-TOFMS proporcionou realizar análises tanto qualitativas quanto semiquantitativas. Pela análise qualitativa foi possível identificar cerca de 28 biomarcadores na maioria das amostras, dentre eles hopanos, gamacerano e terpanos. Enquanto na análise semiquantitativa foi observado que a amostra do IBAMA apresentou concentrações baixas dos biomarcadores em relação as outras amostras, isso pode ter ocorrido pela solubilização dos hidrocarbonetos presentes no óleo na água do mar e biodegradação.

O estudo dos parâmetros geoquímicos permitiu avaliar características relacionada à natureza do petróleo, como o ambiente deposicional, a maturidade térmica do sedimento formador, salinidade, degradação térmica e biodegradação. Essas informações sobre o petróleo são de extrema importância para traçar o histórico químico do óleo, auxiliando assim as ciências forenses. Com os dados obtidos dos parâmetros geoquímicos aliados com a análises quimiométrica, foi observado que a amostra do IBAMA se assemelha a um óleo de °API intermediário. A análise de HRMS por infusão direta possibilitou observar que para o estudo no modo positivo é melhor analisar somente o petróleo bruto já que este apresentou maior número de substâncias detectadas que a fração dos polares, além do fato de ser uma análise mais rápida (menor preparo de amostra e menor uso de solventes). Enquanto no modo negativo ao analisar a fração dos polares foi observado mais compostos detectados, trazendo assim mais informações químicas a nível traço quando comparado com o petróleo bruto.

Desta forma, este trabalho permitiu a caracterização dos diferentes perfis geoquímicos dos óleos brasileiros (leve, médio e pesado) e associação com eventos ambientais de derrame de óleo no mar. Vale ressaltar que este é um estudo preliminar e está sendo continuamente atualizado. A chegada e análise

de novas amostras envolvidas em derramamentos de óleo permitirá refinamentos cada vez mais robustos dos métodos aplicados, além do desenvolvimento de bancos de dados de informações químicas cada vez mais completos, com aplicações no campo da química forense voltado para a área ambiental, além do suporte analítico ao IBAMA.

6. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **ANP divulga dados consolidados da produção de petróleo e gás em maio.**

Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/canais_atendimento/imprensa/noticias-comunicados/anp-divulga-dados-consolidados-da-producao-de-petroleo-e-gas-em-maio>. Acesso em: 14 dez. 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS.

Painéis Dinâmicos de Produção de Petróleo e Gás Natural. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/paineis-dinamicos-da-anp/paineis-dinamicos-sobre-exploracao-e-producao-de-petroleo-e-gas/paineis-dinamicos-de-producao-de-petroleo-e-gas-natural>>. Acesso em: 12 dez. 2022.

ALVES, J. C. *et al.* Correlações geoquímicas entre amostras de petróleo da bacia potiguar. **Química Nova**, v. 41, p. 417- 428, 2018.

ARAÚJO, B. Q. *et al.* Biomarkers of photosynthetic sulfur bacteria in Lower Cretaceous crude oils, East Brazilian marginal basin. **Organic Geochemistry**, v. 148, p. 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, 2015.

IBP. **Maiores reservas provadas de petróleo em 2020.** Disponível em: <<https://www.ibp.org.br/observatorio-do-setor/snapshots/maiores-reservas-provadas-de-petroleo-em-2020/>>. Acesso em: 12 dez. 2022.

IBP. **Maiores produtores mundiais de petróleo em 2021.** Disponível em: <<https://www.ibp.org.br/observatorio-do-setor/snapshots/maiores-produtores-mundiais-de-petroleo-em-2020/>>. Acesso em: 12 dez. 2022.

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, p. 2-20, 2021.

COUTINHO, D. M. *et al.* Rapid hydrocarbon group-type semi-quantification in crude oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Fuel**, v. 220, p. 379-388, 2018.

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.

COVAS, T. R., *et al.* Evaluation of the effects of the simulated thermal evolution of a Type-I source rock on the distribution of basic nitrogen-containing compounds. **Fuel**, v. 254, p.115 - 185, 2019.

CTEOLEO, Comissão Temporária Externa para acompanhar as ações de enfrentamento às manchas de óleo no litoral brasileiro. **Relatório Final**, 2022.

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

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

FRANÇA, D. *et al.* Molecular-level characterization of Brazilian pre-salt crude oils by advanced analytical techniques. **Fuel**, v. 293, p. 120474 , 2021.

GUIMARÃES, R.C.L. Caracterização de Petróleo e Interpretação de Resultados. **Petrobras/CENPES/PDP/AP**, Rio de Janeiro, RJ, 2004.

HEDBERG, H. D. Geologic Aspects of Origin of Petroleum. **Bulletin Of the American Association of Petroleum Geologists**, New Jersey, v. 48, p. 1755-1803, 1964.

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

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

HUNT, J. M. Petroleum Geochemistry and Geology. **Ed. Freeman**, v. 2, p. 743, 1995.

JONES, P. J; Philp, R. P. **Applied Geochemistry**, v. 5, p. 429-448, 1990.

KILLOPS, S.D.; KILLOPS, V.J. An Introduction to Organic Geochemistry. **Longman, Scientific & Technical**. New York, p. 265, 1994.

LAFARGUE, E., BARKER, C.. Effect of water washing on crude oil compositions. **American Association of Petroleum Geologists Bulletin**, v. 72, p. 263–276, 1988.

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

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

MARINHO, A. C. Fragmentos de óleo e lixo oceânico, incluindo seringas, são encontrados em praias de Fernando de Noronha, 2021. **Instituto Chico Mendes da Biodiversidade (ICMBio) – G1/PE**. Disponível em: <https://g1.globo.com/pe/pernambuco/blog/vivernoronha/post/2021/08/14/fragmentos-de-oleo-e-lixo-oceanico-sao-encontradosnas-praias-de-fernando-de-noronha.ghtml>. Acesso em: 13 de dez de 2022

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, p. 1692-1698, 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, p. 848-857, 2017.

MILANI, E. J. *et al.* Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 18, p. 352-396, 2000.

PALMER, S.E. Effect of biodegradation and water washing on crude oil composition. In: Engel, M.H., Macko, S.A. (Eds.), **Organic Geochemistry: Principles and Applications**. Plenum Press, New York, p. 511–533, 1993.

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, p. 231019, 2020.

PEREIRA, R. C. L, *et al.* Precision in Petroleomics via Ultrahigh Resolution Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. **Energy & Fuels**, v.27, p.7208-7216, 2013.

PETERS, K.E.; Moldowan, J.M. The Biomarkers Guide: Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments. **Prentice Hall**, Englewood Cliffs: New Jersey, p. 363, 1993.

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

PHILP, R. P. Forensic Geochemistry. **Natural Resources & Environment**, v. 12, 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.

PRICE, L.C. Aqueous solubility of petroleum as applied to its origin and primary migration. **The American Association of Petroleum Geologists Bulletin**, v.60, p. 213–244, 1976.

SALES, A.; GITEL, M. Geoquímica forense ajuda a entender origem do petróleo nas praias do Nordeste, 2019. **Agência de conteúdo Eco Nordeste**. Disponível em: <https://agenciaeconordeste.com.br/geoquimica-forense-ajuda-a-entender-origem-do-petroleo-nas-praias-do-nordeste/>.

Acesso em: 13 dez 2022

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. **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.; 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, p. 223-229, 2012.

SPEIGHT, J. G. Handbook of petroleum product analysis. **John Wiley & Sons**, Inc., New York, 2001.

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

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

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

TISSOT, B. P.; WELTE, D. H. **Petroleum Formation and Occurrence**. Berlim: Springer-Verlag, v. 2, 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, 2018.

VAN GRAAS, G.W. **Organic Geochemistry**, v. 16, p. 1025-1032, 1990.

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. *et al.* Analytical advanced techniques in the molecular-level characterization of Brazilian crude oils. **Microchemical Journal**, v. 137, p. 111-118, 2018.

VAZ, B.G. *et al.* 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.

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

WAPLES, D. W.; Machihara, T. Biomarkers for Geologist – A Practical Guide to the Application of Steranes and Triterpanes in Petroleum Geology. **American Association of Petroleum Geologists Methods in Petroleum**, v. 9, p. 85, 1991.

WANG, G. *et al.* Biodegradation and water washing within a series of petroleum reservoirs of the Panyu Oil Field. **Organic Geochemistry**, v. 96, p. 65–76, 2016.

WANG, Z. e FINGAS, M. F. Development of oil hydrocarbon fingerprinting and identification techniques. **Marine Pollution Bulletin**, v. 47, p. 423–452, 2003.

WANG Z, STOUT AS, FINGAS M. Forensic Fingerprinting of Biomarkers for Oil Spill Characterization and Source Identification. **Environmental Forensics**, v. 7, p. 105-146, 2007.

APÊNDICE A: Produções Científicas

- **Trabalhos apresentados**

Geovana de Moura Coccaro, Gleicielle Tozzi Wurzler, Francisco Radler de Aquino Neto, Gabriela Vanini Costa. “Avaliação Geoquímica Molecular de Petróleos Brasileiros Aplicada em Estudos Forense”. Em: **11ª Semana de Integração Acadêmica da UFRJ**, 2021, Online, Brasil.

Geovana de Moura Coccaro, Gleicielle Tozzi Wurzler, Francisco Radler de Aquino Neto, Gabriela Vanini Costa. “Avaliação Geoquímica Molecular de Petróleos Brasileiros Aplicada em Estudos Forense”. Em: **XVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química**, 2022, Rio de Janeiro, Brasil.

APÊNDICE B: Projeções Futuras

- Realizar uma avaliação mais crítica da amostra coletada no derramamento de petróleo no litoral nordestino em 2019.
- Para técnica analítica avançada GC×GC-TOFMS focar em uma caracterização mais completa dos compostos apolares.
- Na técnica ESI(±)-Orbitrap-HRMS caracterizar completamente os compostos polares.
- Por meio da integração das técnicas, verificar melhor a possibilidade de biodegradação e de perdas durante o processo de coleta e análise que possam ter impactado nestes resultados, por se tratar de um óleo intermediário para leve.