

Revista Femass

eISSN 2675-6153

Número 4 - jul./dez., 2021

AVALIAÇÃO GEOQUÍMICA DA EXTENSÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE ÓLEOS DA BACIA DE SANTOS VIA PETROLEÔMICA POR ESI(-) FT-ICR MS

GEOCHEMICAL ASSESSMENT OF THE BIODEGRADATION EXTENSION OF
OILS FROM SANTOS BASIN USING PETROLEOMICS BY ESI(-) FT-ICR MS

Laercio Lopes Martins

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

E-mail: laercio@lenep.uenf.br

 <https://orcid.org/0000-0001-6216-990X>

Caroline Adolphsson do Nascimento

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

E-mail: adolphsson@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-8199-5649>

Georgiana Feitosa da Cruz

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

E-mail: georgiana@lenep.uenf.br

 <https://orcid.org/0000-0003-2116-2837>

Marcos Albieri Pudenzi

Universidade Estadual de Campinas

E-mail: marcospudenzi@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0003-2016-8647>

Letícia Fernandes Sakai

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

E-mail: leticiasakai@lenep.uenf.br

 <https://orcid.org/0000-0003-2008-0004>

Recebido: 30/09/2021

Aprovado: 20/12/2021

DOI: <https://dx.doi.org/10.47518/uf.v4i1.61>



Os artigos publicados neste número estão em acesso aberto (*Open Access*) sob a licença *Creative Commons Attribution*, que permite o uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições, desde que os trabalhos originais sejam corretamente citados.

Resumo: Amostras de óleo do pré-sal e pós-sal da Bacia de Santos foram geoquimicamente investigadas para avaliar a biodegradação, a qual afeta a qualidade do óleo produzido. As técnicas convencionais de cromatografia gasosa inicialmente utilizadas, CG-EM e CG-DIC, não foram suficientes para diferenciar a extensão da biodegradação entre as amostras, considerando somente os compostos saturados e aromáticos do petróleo. No entanto, a análise dos compostos polares por espectrometria de massa de ressonância de íon ciclotron com transformação de Fourier (FT-ICR MS) auxiliou em uma melhor avaliação da biodegradação. Isso foi possível porque a amostra do pós-sal apresentou maior abundância para a classe O2, menores valores das razões A/C e A/C modificada e maior valor para o índice SA modificado, em comparação com as amostras do pré-sal, em virtude, respectivamente, da maior quantidade de ácidos naftênicos formados devido à biodegradação, da degradação dos ácidos acíclicos mais susceptíveis à biodegradação e devido à formação de ácidos cíclicos de DBE 2, 3, 4 e 5, os quais também são produtos do processo de biodegradação. Portanto, constatou-se que a amostra do pós-sal é mais biodegradada, ou compõe uma mistura envolvendo um óleo mais biodegradado do que as amostras do pré-sal. Embora se deva ter precaução na utilização dos compostos da classe O2 para avaliação da extensão da biodegradação, considerando que esses compostos podem sofrer influência de outros fatores, a ideia central do presente trabalho é mostrar que a biodegradação afeta essa classe de uma forma muito característica, removendo os ácidos acíclicos e gerando os ácidos cíclicos.

Palavras-chave: Compostos ácidos; Biodegradação; FT-ICR MS; Petroleômica; Geoquímica orgânica.

Abstract: Oil samples from the pre-salt and post-salt Santos Basin were geochemically investigated to assess biodegradation, which affect the quality of the produced oil. The used conventional gas chromatography techniques, e.g., GC-MS and GC-FID, were not sufficient to differentiate the extent of biodegradation among the samples considering only the saturated and aromatic compounds from the oil. However, the analysis of the polar compounds by Fourier transform cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR MS) assisted in a better evaluation of biodegradation. This was possible since the post-salt sample showed greater abundance for the O2, lower values of A/C and modified A/C ratios, and higher value for modified SA index than post-salt samples, due to, respectively, the higher abundance of naphthenic acids formed due to biodegradation, to the degradation of acyclic acids that are more susceptible to biodegradation, and the formation of cyclic acids from DBE 2, 3, 4 and 5 with biodegradation. Therefore, the post-salt oil sample is more biodegraded than the pre-salt samples, or is a mixture including biodegraded oil. Although caution should be taken in evaluating biodegradation using O2 class compounds, considering that they can be altered by other factors, the central idea of this work is show that biodegradation affects this class in a very characteristic way, removing acyclic acids and generating cyclic acids.

Keywords: Acidic compounds; Biodegradation; FT-ICR MS; Petroleumics; Organic geochemistry.

1 INTRODUÇÃO

A avaliação geoquímica do petróleo permite a predição de suas principais propriedades físico-químicas, além da investigação de seu ambiente deposicional e tipo de matéria orgânica, evolução térmica de sua rocha geradora, rotas de migração e avaliação da alteração composicional após processos secundários de pós-acumulação (HUNT *et al.*, 1996; PETERS *et al.*, 2005; ESCOBAR *et al.*, 2012). Nas últimas décadas, o uso da geoquímica tem otimizado a descoberta de novas acumulações de óleo e gás (HUNT *et al.*, 1996; PETERS E FOWLER, 2002; MEILIJSON *et al.*, 2020) e a avaliação de sua qualidade, o que pode influenciar a viabilidade econômica de uma oportunidade de desenvolvimento e produção de um campo de petróleo (WENGER *et al.*, 2002). A biodegradação, uma alteração microbiana de petróleo no interior de reservatórios impacta quase todas as propriedades de qualidade do óleo (HEAD *et al.*, 2003) e pode ser investigada detalhadamente fazendo uso de ferramentas geoquímicas (PETERS E MOLDOWAN, 1991; PETERS E FOWLER, 2002; LARTER *et al.*, 2012).

Uma das ferramentas para se avaliar a extensão da biodegradação de óleos é pelo estudo de biomarcadores, compostos que possuem suas estruturas (esqueleto de carbono) relacionadas de forma inequívoca às estruturas de compostos precursores na matéria orgânica de origem (PHILP, 1985). Diversas classes de biomarcadores foram estabelecidas em estudos geoquímicos orgânicos, como terpanos e esteranos (PETERS *et al.*, 2005). A distribuição desses compostos tem sido avaliada em amostras geoquímicas por técnicas de cromatografia gasosa (CG), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM; PETERS *et al.*, 2005) e a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massa (CGxCG-EM; FRANÇA *et al.*, 2021). No entanto, a cromatografia gasosa tem a limitação de analisar apenas componentes suficientemente voláteis, com baixo peso molecular e, em geral, apolares (MARSHALL E RODGERS, 2004).

O surgimento da espectrometria de massa de ressonância ciclôtrica de íons por transformada de Fourier (FT-ICR MS; *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*) possibilitou a avaliação da composição do petróleo a nível molecular, incluindo os compostos com alto peso molecular como os asfaltenos (RODGERS *et al.*, 2005). Sua alta resolução e precisão são ideais para a análise de misturas complexas, como o petróleo, permitindo a atribuição de massas e fórmulas químicas para milhares de moléculas de médio a alto peso molecular ($m/z > 150$ Da; HUGHEY *et al.*, 2002; RODGERS E MCKENNA, 2011; VANINI *et al.*, 2020). Quando acoplada à ionização por electrospray no modo negativo [ESI(-)], permite a avaliação de compostos NSO ácidos, capazes de serem desprotonados, incluindo os carbazóis (classe N), ácidos carboxílicos (classe O2) e fenóis (classe O1) e, portanto, a análise por ESI FT-ICR-MS permite avaliar compostos não analisados pela CG-EM, separando-os por classe heteroatômica (NnOoSs), grau de insaturação ou deficiência de hidrogênio (DBE; *Double Bond Equivalent*) e número de carbono (YUE *et al.*, 2021).

Nesse contexto, tem-se o conceito de “petroleômica”, que é um campo da ciência voltado para a caracterização do petróleo a nível molecular por técnicas de alta resolução, capazes de detectar milhares de compostos hidrocarbonetos e polares e a partir disso prever suas propriedades físico-químicas, geoquímicas e comportamentos (RODGERS *et al.*, 2005; ROCHA *et al.*, 2019b).

Uma das avaliações que pode ser realizada utilizando as análises por ESI(-) FT-ICR MS é a extensão da biodegradação de óleos (KIM *et al.*, 2005; VAZ *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2017). KIM *et al.* (2005) propuseram a razão A/C calculada pela razão entre os ácidos acíclicos (DBE 1) sobre os ácidos cíclicos (DBE 2, 3 e 4) da classe O2. VAZ *et al.* (2013) propuseram o Índice SA para avaliar biodegradação, que é a abundância relativa dos compostos de DBE 1 a 6 da classe O2. MARTINS *et al.* (2017) sugeriram uma alteração do Índice SA, propondo o Índice SA modificado, sendo esse calculado como abundância relativa dos compostos de DBE 2 a 6 da classe O2. ANGOLINI *et al.* (2015) propuseram uma escala de biodegradação utilizando os compostos da classe O2, baseando-se na premissa de que compostos ácidos menos complexos (menor DBE) são mais depletados que aqueles compostos ácidos mais complexos (maior DBE). Além disso, diversos trabalhos já relataram uma maior abundância da classe O2 para óleos mais biodegradados (HUGHEY *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2005; LIAO *et al.*, 2012; MARTINS *et al.*, 2017).

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi investigar a composição de compostos polares ácidos de três amostras de óleo de campos distintos da Bacia de Santos por ESI(-) FT-ICR com o intuito de utilizar as informações obtidas na avaliação da extensão da biodegradação. Os resultados obtidos foram comparados com a caracterização geoquímica convencional das amostras de óleos, utilizando biomarcadores avaliados por cromatografia gasosa. A finalidade dessa comparação é apresentar a importância das espécies ácidas na caracterização geoquímica dos fluidos petrolíferos, avaliando seu estágio de biodegradação, por meio do uso da técnica de espectrometria de massas de alta resolução para complementar as investigações geoquímicas clássicas por técnicas cromatográficas.

2 BACIA DE SANTOS

A Bacia de Santos (Figura 1) está localizada na plataforma continental brasileira e é a maior bacia *offshore* do país com uma área de cerca de 350 mil km², atingindo profundidades de até 5 mil metros (MOREIRA *et al.*, 2007). É classificada como uma bacia de margem passiva com embasamento econômico de idade neocomiana, cuja formação é vinculada à ruptura do Supercontinente Gondwana e à abertura do oceano Atlântico (MIO *et al.*, 2005). Segundo MOREIRA *et al.* (2007), sua evolução tectonoestratigráfica pode ser dividida em três superseqüências principais: Rifte, Pós-Rifte e Drifte.

As atividades de exploração na Bacia de Santos começaram na década de 80 (PEREIRA E MACEDO, 1990). A partir de 1995, com o fim do monopólio da Petrobras e a regulação e competição de mercado, houve a abertura para contratação de empresas privadas levando a descobertas de novas jazidas de petróleo nessa e em outras bacias brasileiras (EXPLORAÇÃO..., 2020). Outro marco importante data de 2005, com a descoberta dos primeiros indicativos de existência de petróleo na camada Pré-Sal, próximo a Parati (CHANG *et al.*, 2008).

Atualmente, de acordo com os indicadores mensais de produção da Agência Nacional de Petróleo (ANP, 2021), a Bacia de Santos ocupa o primeiro lugar em termos de produção de petróleo e gás natural no Brasil, reunindo os dois maiores campos produtores do país, Tupi e Búzios, com potencial promissor de crescimento pelos próximos anos. Segundo CHANG *et al.* (2008), a bacia tem como um dos mais importantes sistemas petrolíferos da porção pré-sal, os folhelhos lacustres intercalados a carbonatos da Formação Piçarras (rochas geradoras), cujos óleos são acumulados em carbonatos das formações Itapanema e Barra Velha (rochas reservatórios). Já na porção pós-sal, a geração ocorre a partir de folhelhos marinhos anóxicos (Formação Itajaí-Açu), com acumulação em arenitos turbidíticos da Formação Ilhabela.



Figura 1. Localização da Bacia de Santos (modificado de Riccomini, 2012). Apresenta-se também no mapa o polígono com os reservatórios do pré-sal, inserido nas bacias de Campos e Santos. Macaé é mostrado no mapa, estando próximo aos campos de óleo do pré-sal.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

Este trabalho foi realizado utilizando um conjunto de três amostras de óleo da Bacia de Santos: SA01, SA02 e SA03. Essas amostras foram produzidas a partir de reservatórios com condições distintas, sendo a amostra SA02 do Pós-Sal e as amostras SA01 e SA03 do pré-sal. Os óleos são relacionados com rochas carbonáticas (microbiolitos e coquinas), com idade aptiana, das Formações Barra Velha e Itapema (PEREIRA E MACEDO, 1990).

Precipitação dos asfaltenos e cromatografia líquida

Os asfaltenos foram precipitados a partir de, aproximadamente, 500 mg de amostras de óleo, usando 20 mL de *n*-pentano em um banho ultrassônico por 10 min e, em seguida, filtrados em papel de filtro. O asfalteno precipitado foi lavado três vezes com 20 mL de *n*-pentano para melhorar a recuperação dos maltenos, seguido pela filtragem. Aproximadamente 40 mg da fração de malteno foi separada nas frações saturadas, aromáticas e de resina por eluição sucessiva com 30 mL de *n*-hexano, *n*-hexano/diclorometano (8:2, v/v), e diclorometano/metanol (9:1, v/v), respectivamente, em uma coluna cromatográfica com sílica gel 60 pré-ativada em estufa a 120 °C por 12 h (aproximadamente 20 g; de acordo com Martins *et al.*, 2014). As frações saturadas e aromáticas foram então analisadas por CG-EM.

4 CG-DIC e CG-EM

As amostras de óleo total foram analisadas pela técnica de cromatografia gasosa com detector por ionização de chamas (CG-DIC), utilizando um equipamento Agilent 6890N CG e DIC com ar sintético, H₂ e N₂. O forno do CG foi equipado com uma coluna capilar de sílica fundida do tipo HP-5 (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm de espessura de filme, Agilent, Santa Clara, EUA), e foi realizada isotermicamente a 40 °C por 1 min, e aquecida de 40 a 310 °C a 6 °C min⁻¹, com a temperatura final mantida por 19 min. As temperaturas do injetor e do detector foram, respectivamente, de 290 e 320 °C. O gás de arraste foi hélio a 2,2 mL min⁻¹, com fluxo constante (MARTINS *et al.*, 2017).

As frações de compostos saturados e aromáticos obtidas dos óleos foram analisadas pela técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM), utilizando um CG Agilent 6890N e um EM 5973-MSD (MARTINS *et al.*, 2017; MARTINS *et al.*, 2019). Foi utilizada uma coluna capilar de sílica do tipo DB5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme, Agilent, Santa Clara, EUA). Para a análise da fração de saturados, o forno foi mantido isotermicamente a 60 °C por 2 min, aquecido de 60 a 200 °C a 22 °C min⁻¹, depois mantido isotermicamente 200 °C por 3 min e aquecido de 200 a 300 °C a 3 °C min⁻¹, com a temperatura final mantida por 25 min.

Para a análise da fração aromática, o forno foi mantido isotermicamente a 70 °C por 1 min, aquecido de 70 a 110 °C a 22 °C min⁻¹, depois mantido isotermicamente a 110 °C por 1 min e aquecido de 200 a 300 a 3 °C min⁻¹, com a temperatura final mantida por 10 min. As temperaturas do injetor e da linha de transferência foram, respectivamente, de 300 e 280 °C. O gás de arraste foi o hélio a 1 mL min⁻¹, com fluxo constante. A EM foi realizada utilizando o modo de ionização eletrônica (EI) com 70 eV e uma temperatura de 230 °C. 1 µL de amostra foi injetada em modo *splitless* na concentração de 0,02 mg/µL. Os dados foram coletados no modo de varredura completa (*fullscan*) e no modo de monitoramento de íons selecionados (SIM).

5 ESI(-) FT-ICR-MS

Aproximadamente 2 mg das amostras de óleo cru foram previamente diluídas em 1 mL de tolueno e depois com 1 mL de metanol contendo 0,2% de hidróxido de amônio (grau cromatográfico, Sigma-Aldrich). Foi realizada uma infusão direta por ionização electrospray em um espectrômetro de massa 7,2 T LTQ FT Ultra (Termo Scientific, Bremen, Alemanha) com um poder de resolução de 400 000 na faixa de massa 200-1000 Da. Utilizou-se um fluxo de seringa de 5 µL min⁻¹, com uma tensão de pulverização de 3,1 kV, adquirindo um espectro de 100 *scans* para cada amostra (MARTINS *et al.*, 2017). Os dados do FT-ICR MS foram processados pelo *software* PetroMS (CORILO *et al.*, 2010), em que se atribuiu inequivocamente fórmulas aos picos com uma relação sinal-ruído de >3. Os elementos permitidos foram ¹²C, ¹³C, ¹H, ¹⁶O, ¹⁴N e ³²S. O erro máximo permitido na fórmula foi de 1 ppm (detalhes em MARTINS *et al.*, 2017).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da Biodegradação

Para avaliar a extensão de biodegradação das amostras de óleo da Baía de Santos, inicialmente foi analisada a distribuição de *n*-alcanos e dos isoprenoides acíclicos pristano (Pr) e fitano (Fi), observados nos cromatogramas obtidos por CG-DIC das três amostras de óleo (Figura 2). Denominados na indústria de petróleo como *fingerprint* do óleo, ou seja, sua impressão digital, esses cromatogramas são característicos para cada tipo de óleo.

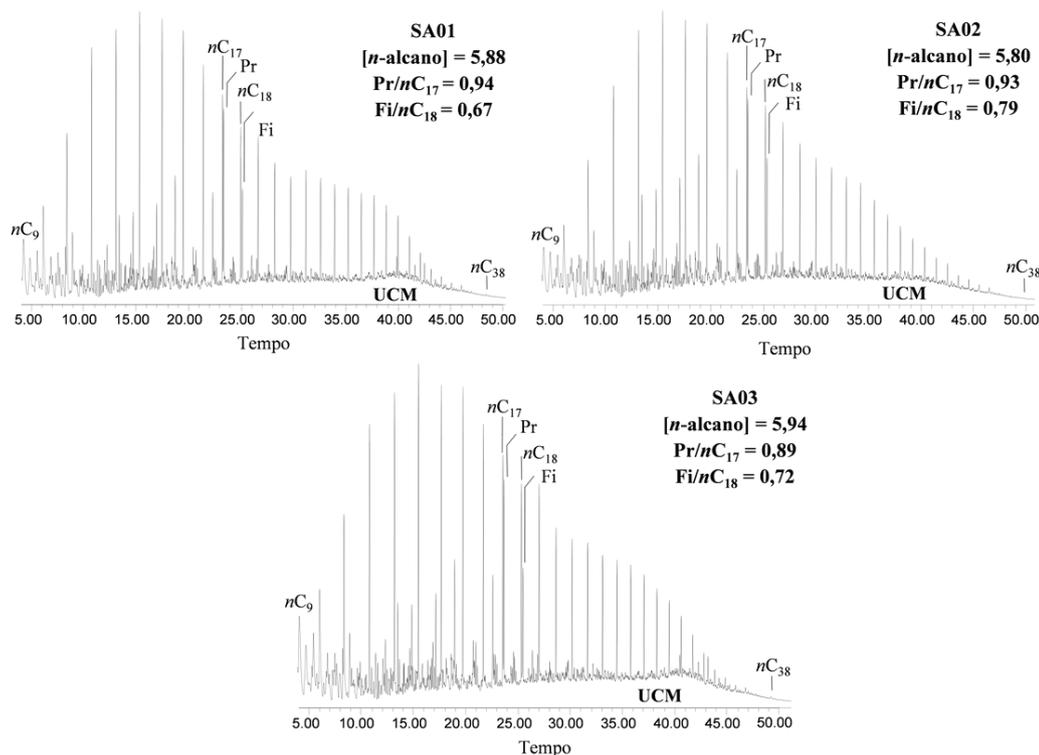


Figura 2. Cromatogramas obtidos pelas análises de CG-DIC das amostras de óleo SA01, SA02 e SA03 da Bacia de Santos. Pr: pristano; Fi: fitano; nC_9 , nC_{17} , nC_{18} e nC_{38} : alcanos lineares; UCM: *Unresolved Complex Mixture*.

Observa-se na Figura 2 que os cromatogramas apresentam perfis muito similares, com alta abundância de n -alcanos e presença de uma mistura complexa não resolvida (UCM - *unresolved complex mixture*) também aparentemente de mesma proporção, o que indica similar extensão de biodegradação, considerando apenas a análise do perfil cromatográfico. O aparecimento da UCM está relacionado a produtos de biodegradação que não são separados pela cromatografia gasosa (HEAD *et al.*, 2010) e, portanto, é uma indicação de que esses óleos foram biodegradados até um certo nível. A similaridade no perfil dos cromatogramas CG-DIC é confirmada pelos valores próximos da concentração de n -alcanos (de C9 a C38) e das razões de Pr/nC_{17} e Fi/nC_{18} entre as amostras (Tabela 1), que indicam um nível de biodegradação de 2-3 na escala de Peters e Moldowan (escala PM; PETERS E MOLDOWAN, 1991), comparando os valores com os obtidos para óleos brasileiros em MARTINS *et al.* (2017).

Amostra	Nível de Biodegradação ^a	GC-FID				GC-MS					
		<i>n</i> -alcanos (mg/100mg de óleo) ^b	<i>n</i> -alcanos	Pr/ <i>n</i> C ₁₇ ^c	Fi/ <i>n</i> C ₁₈ ^d	H ₃₀ /AC ^e	H ₃₀ /DC ^f	H ₃₀ /Fi ^g	25NH/H ₃₀ ^h	TA/Fi ⁱ	TA/MDB ^j
SA01	2-3	5,89	C ₉ -C ₃₈	0,94	0,67	0,18	1,17	0,09	0,09	0,39	1,45
SA02	2-3	5,80	C ₉ -C ₃₈	0,93	0,79	0,05	0,36	0,02	0,06	14,52	12,11
SA03	2-3	5,94	C ₉ -C ₃₈	0,89	0,72	0,20	1,29	0,07	0,08	0,80	1,43

*a*Nível de biodegradação de acordo com a escala PM; *b*Soma de *n*-alcanos ΣC₉-C₃₈ no óleo total, usando 5α-androstano (0,02 mg mL⁻¹) como padrão interno; *c*Pristano sobre o *n*-alcano C₁₇; *d*Fitano sobre o *n*-alcano C₁₈; *e*H₃₀ 17α(H),21β(H)-hopano (cromatograma *m/z* 191) sobre os *n*-alquilciclohexanos (cromatograma *m/z* 83); *f*H₃₀ 17α(H),21β(H)-hopano (cromatograma *m/z* 191) sobre o decil-ciclohexano (cromatograma *m/z* 83); *g*H₃₀ 17α(H),21β(H)-hopano (cromatograma *m/z* 191) sobre o fitano (cromatograma *m/z* 183); *h*H₂₉ 17α(H),21β(H)-25-nor-hopano sobre 17α(H),21β(H)-hopano (cromatograma *m/z* 191); *i*Soma de triaromáticos esteranos (cromatograma *m/z* 231) sobre o fenantreno (cromatograma *m/z* 178); *j*Soma de triaromáticos esteranos (cromatograma *m/z* 231) sobre metildibenzotiofenos (cromatograma *m/z* 198).

Além da investigação dos *n*-alcanos e dos isoprenoides, compostos biomarcadores saturados e aromáticos analisados por CG-EM foram investigados, (MARTINS *et al.*, 2017; 2019), incluindo os alquilciclohexanos (AC; monitorado pelo íon *m/z* 83), terpanos tricíclicos e pentacíclicos (monitorados pelo *m/z* 191), esteranos regulares (monitorado pelo íon *m/z* 217), fenantreno (F; monitorado pelo íon *m/z* 178), metildibenzotiofenos (MDB; monitorados pelo íon *m/z* 198) e os esteranos triaromáticos (TA; monitorados pelo íon *m/z* 231). Algumas razões para avaliar biodegradação utilizando esses biomarcadores são apresentadas na Tabela 1 e na Figura 3, baseadas na concepção de que a biodegradação geralmente remove os hidrocarbonetos presentes no petróleo de forma quase sequencial e sistemática, na seguinte ordem decrescente: *n*-alcanos > alquilciclohexanos > isoprenoides acíclicos > cicloalcanos > esteranos > hopanos (HEAD *et al.*, 2003).

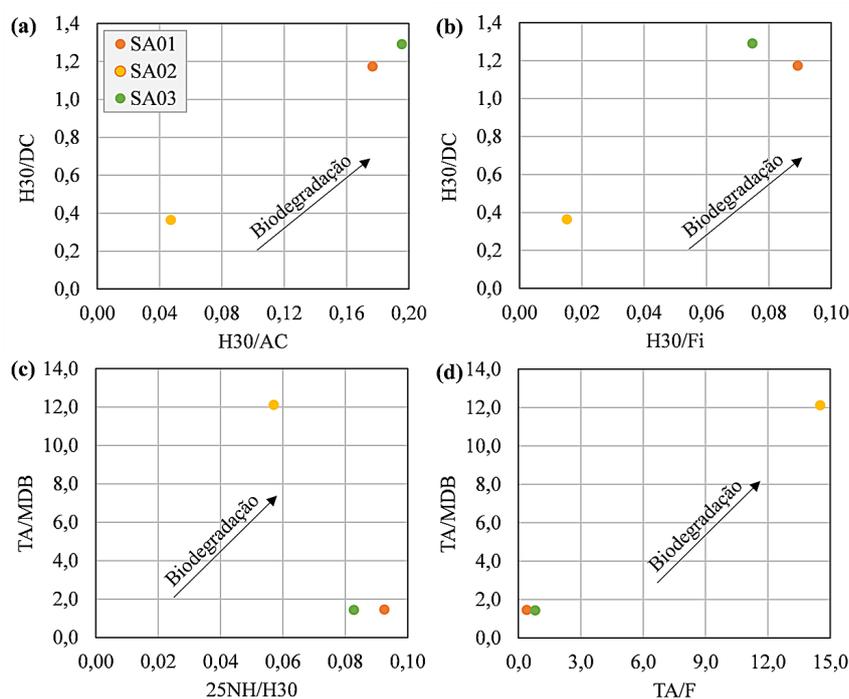


Figura 3. Gráficos para avaliar a extensão da biodegradação: (a) H30/DC versus H30/AC; (b) H30/DC versus H30/Fi (MARTINS *et al.*, 2019); (c) TA/MDB versus 25NH/H30; (d) TA/MDB versus TA/F. As setas indicam as tendências de aumento da biodegradação.

Como se observa nas Figuras 3a, b e c, os parâmetros H30/DC, H30/AC, H30/Fi e 25NH/H30 indicam maior extensão da biodegradação para as amostras do pré-sal SA01 e SA03, porém os parâmetros TA/MDB e TA/F indicam menor extensão para essas amostras (Figura 3d). Isso ocorre porque fatores como origem e maturidade térmica, bem como os processos aos quais o petróleo está suscetível durante a migração e posterior acumulação, podem afetar sua composição e, assim, influenciar na avaliação da biodegradação. Além disso, toda acumulação de petróleo é composta por uma mistura de óleos, sejam de origens distintas, ou de maturidade e extensão de biodegradação diferentes (HEAD *et al.*, 2003) de forma que, dificilmente, é possível isolar a análise da biodegradação sem que seus parâmetros sejam influenciados pelos demais fatores citados. O H30 17 α (H), 21 β (H)-hopano (H30), por exemplo, é mais recalcitrante que os alquilciclohexanos, por ser um biomarcador mais resistente. Os valores dos parâmetros H30/DC, H30/AC e H30/Fi obtidos para a amostra SA02 foram baixos, o que pode ser devido à baixa abundância do hopano H30, nessa amostra, relacionada às suas características de origem, como indicado pelo menor valor da razão Hop/Ste, na Figura 4.

Os demais parâmetros apresentados na Figura 4 para avaliar o *input* de matéria orgânica e o ambiente deposicional são também distintos entre as amostras de óleo do pré-sal (SA01 e SA03), que têm mais características lacustres, e a amostra do pós-sal (SA02), com características mais de ambiente marinho (INOUE, 2015; ROCHA *et al.*, 2019). Essa diferença nas condições de origem muito provavelmente afetou os parâmetros de biodegradação apresentados na Tabela 1 e na Figura 3.

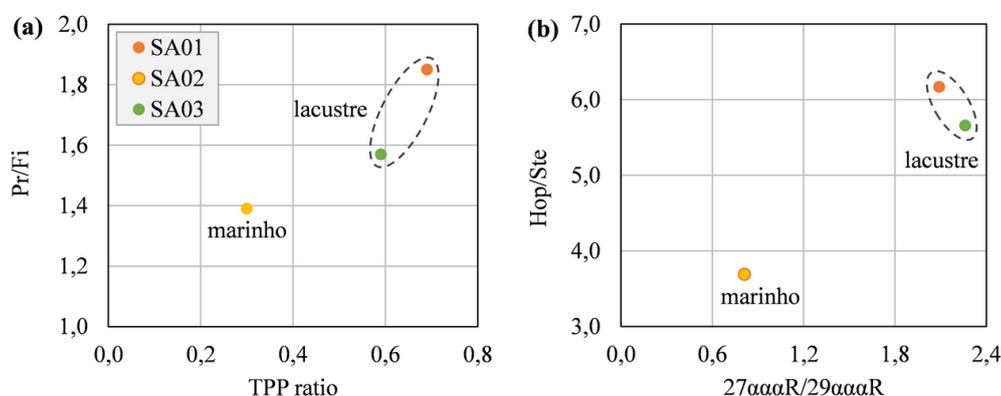


Figura 4. Gráficos para avaliar a origem dos óleos da Bacia de Santos, se lacustre ou marinho: (a) Pr/Fi versus TPP ratio; (b) Hop/Ste versus 27 $\alpha\alpha\alpha$ R/29 $\alpha\alpha\alpha$ R. Pr/Fi: Pristano sobre o Fitano; TPP ratio: soma dos tetracíclicos C30 18 α , R e S sobre C27 20S e 20R 13 β , 17 α -diasterano (cromatograma *m/z* 259); Hop/Ste: C30 17 α , 21 β -hopano (cromatograma *m/z* 191) sobre C27 20R e 20S 5 α , 14 α , 17 α (H)-colestano (cromatograma *m/z* 217); 27 $\alpha\alpha\alpha$ R/29 $\alpha\alpha\alpha$ R: C27 20R 5 α , 14 α , 17 α (H)-colestano sobre C29 20R 5 α , 14 α , 17 α (H)-etilcolestano (cromatograma *m/z* 217).

Biodegradação por petroleômica

O conhecimento de que a biodegradação altera a distribuição dos compostos hidrocarbonetos saturados e aromáticos por remoções seletivas já é bem difundido e estabelecido na área de Geoquímica do Petróleo (PETERS *et al.*, 2005). No entanto, concomitantemente, a biodegradação também altera a composição dos compostos polares (ANGOLINI *et al.*, 2015), e, portanto, esses compostos analisados por FT-ICR MS podem ser utilizados para avaliar a extensão da biodegradação (RODGERS *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2005).

A Figura 5 apresenta a distribuição heteroatômica para as amostras SA01, SA02 e SA03, em que se observa maior abundância da classe O2 (composta principalmente por ácidos naftênicos) para a amostra SA02, o que é um indício de que a mesma é mais biodegradada do que as demais (VAZ *et al.*, 2013). Isso ocorre porque compostos ácidos são formados no processo de degradação microbiana e, assim, o estudo da composição desses no petróleo pode ser utilizado na avaliação da extensão da biodegradação (KIM *et al.*, 2005; DA CRUZ *et al.*, 2012; ANGOLINI *et al.*, 2015).

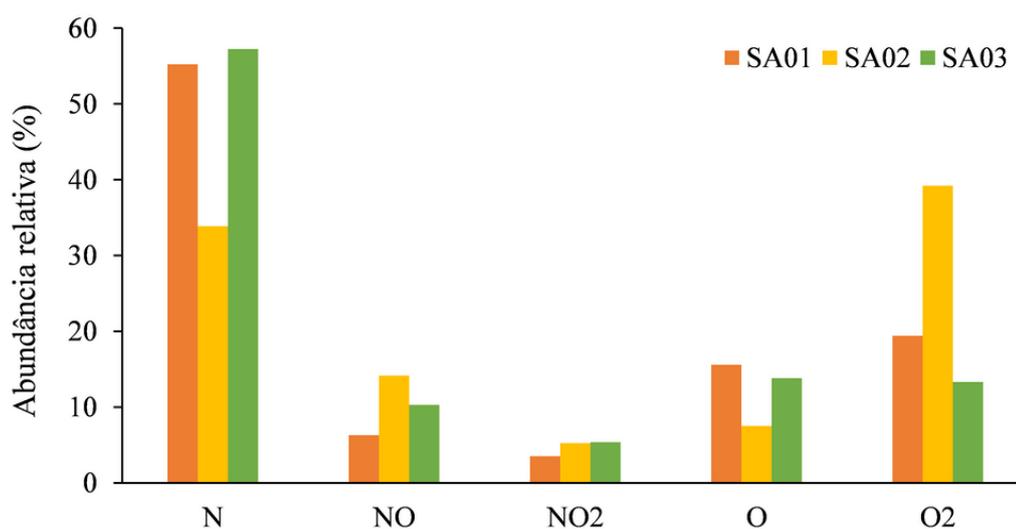


Figura 5. Distribuição heteroatômica dos compostos polares ácidos identificados por ESI(-) FT-ICR MS nas amostras de óleo da Bacia de Santos SA01, SA02 e SA03.

O processo de biodegradação é avaliado principalmente pela análise da classe O2, composta por ácidos carboxílicos. Esses compostos polares são classificados de acordo com o DBE, em que os compostos de DBE 1 da classe O2 correspondem principalmente aos ácidos lineares, acíclicos (uma dupla referente ao grupo funcional carboxila); já os compostos de DBE 2 da classe O2 correspondem aos ácidos monocíclicos (uma dupla do grupo carboxila mais um anel; MARTINS *et al.*, 2019). Dessa forma, a Figura 6 apresenta a distribuição de DBE da classe O2 para as amostras de óleo, em que se observa menor abundância relativa de compostos lineares da classe O2 (DBE 1) para amostra SA02.

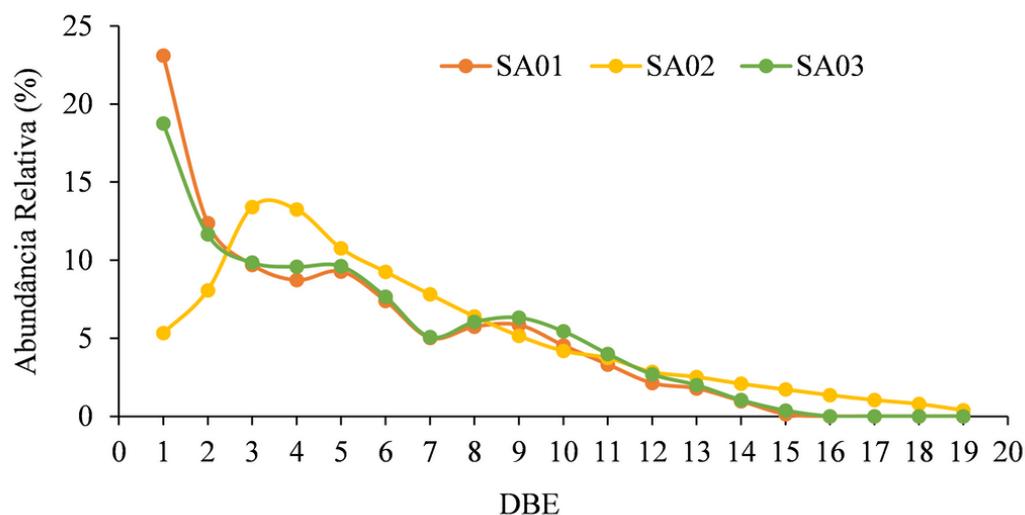


Figura 6. Distribuição de DBE da classe O2 para as amostras da Bacia de Santos SA01, SA02 e SA03.

A partir da distribuição de DBE dos compostos da classe O2, os seguintes parâmetros sugeridos em trabalhos anteriores foram calculados para avaliação da biodegradação: razão A/C (*acyclic to cyclic ratio*; calculada como a razão de compostos de DBE 1 sobre DBE 2 a 4; KIM *et al.*, 2005) e razão A/C modificada (calculada como a razão de compostos de DBE 1 sobre DBE 2 a 6; VAZ *et al.*, 2013), que diminuem com o aumento da biodegradação; e o índice SA (*SA index*; calculado pela soma das abundâncias relativas dos compostos de DBE 1 a 6 da classe O2; VAZ *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2017), que evolui com o aumento da biodegradação. Menores valores para as razões A/C e A/C modificada foram obtidos para a amostra SA02 (Figura 7), apontando para um maior nível de biodegradação, em que houve uma considerável degradação de compostos acíclicos (DBE 1) e a provável geração de ácidos cíclicos, principalmente de DBE 2, 3 e 4. Isso é corroborado pela alta abundância da classe O2 (Figura 5) nessa amostra e também pelo maior valor do índice SA modificado (Figura 7). Visto que a amostra SA02 apresenta alta abundância de *n*-alcanos (Figura 2), incluindo os *n*-alcanos de baixo peso molecular (e.g., *n*C8 a *n*C12), outra possibilidade é de que essa amostra seja uma mistura de óleos, na qual inclui um óleo mais pesado (até o nível moderado de biodegradação devido aos baixos valores da razão 25NH/H30; LARTER *et al.*, 2012) e que contém elevada abundância de ácidos naftênicos (classe O2).

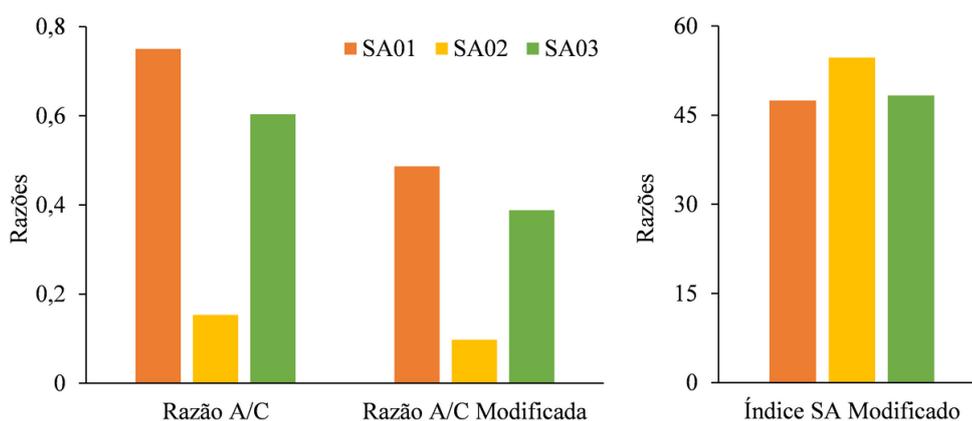


Figura 7. Razões A/C, A/C modificada e índice SA modificado calculadas a partir da distribuição de DBE da classe O2 para avaliar biodegradação das amostras de óleo da Bacia de Santos.

Comparando-se a distribuição de DBE da classe O2 apresentada na Figura 6 para as amostras da Bacia de Santos investigadas neste trabalho com a mesma distribuição para amostras de óleo de origem marinha e lacustre produzidas de quatro bacias sedimentares brasileiras *offshore* apresentadas por ROCHA *et al.* (2018), observou-se que não existe similaridade no perfil da amostra SA02 com nenhuma dessas amostras. Isso indica que esse perfil apresentado pelas amostras SA02 está mais relacionado com efeitos da biodegradação do que de origem.

CONCLUSÕES

Os compostos polares ácidos analisados pela técnica de alta resolução e precisão de massa ESI (-) FT-ICR MS têm uma significativa aplicabilidade para investigar a extensão da biodegradação de óleos, auxiliando e/ou complementando as avaliações realizadas pelas técnicas convencionais de cromatografia gasosa. No presente estudo foi possível, por meio desses compostos, avaliar melhor a biodegradação de óleos da Bacia de Santos, onde o óleo originado de um reservatório do pós-sal apresentou uma maior extensão da biodegradação (ou mistura envolvendo um óleo mais biodegradado), e assim menor qualidade, quando comparado a outros dois óleos do pré-sal.

A abordagem petroleômica, incluindo análises mais rápidas e precisas, é de grande importância para a indústria do petróleo, que vem vivenciando crescentes descobertas de campos e aumento na produção, principalmente do pré-sal das bacias de Campos e Santos. A partir dessas análises, pode-se prever a extensão da biodegradação, que está diretamente relacionada à qualidade do óleo e a sua acidez.

Embora se deva ter precaução na avaliação da biodegradação por meio dos compostos da classe O2, visto que outros fatores podem influenciar na composição polar ácida do petróleo, como a origem desse óleo, maturidade térmica e outros processos de alterações secundárias, o perfil da classe O2 de óleos biodegradados são muito característicos, com a baixa abundância dos ácidos acíclicos (DBE 1) e alta abundância de compostos cíclicos (principalmente com DBE 2, 3 e 4).

7 AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelo Laboratório de Engenharia e Exploração de Petróleo da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (LENEP/UENF) e pelo Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Os autores agradecem ao apoio financeiro do PRH20-ANP, Capes e FAPERJ.

REFERÊNCIAS:

Agência Nacional do Petróleo (ANP). **Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural**. ANP: Agosto, n. 132, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins-anp/bmp/2021/2021-08-boletim.pdf>

ANGOLINI, C. F. F.; CAPILLA, R.; MARSAIOLI, A. J. Petroleum Biodegradation Effects on Polar Acidic Compounds and Correlation with Their Corresponded Hydrocarbon Fractions. **Energy&Fuels**, v. 29, p. 4886-4892, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b01116>

CHANG, H. K.; ASSINE, M. L.; CORRÊA, F. S.; TINEN, J. S.; VIDAL, A. C.; KOIKE, L. Sistemas petrolíferos e modelos de acumulação de hidrocarbonetos na Bacia de Santos. **Revista Brasileira de Geociências**, São Paulo, v. 38 (2 – suplemento), p. 29-46, 2008. Disponível em: <http://doi.org/10.25249/0375-7536.2008382S2946>

CORILO, Y. E.; VAZ, B. G.; SIMAS, R. C.; Nascimento, H. D. L.; KLITZJE, C. F.; PEREIRA, R. C. L.; BASTOS, W. L.; SANTOS NETO, E. V.; RODGERS, R. P.; EBERLIN, M. N. Petroleomics by EASI(±) FT-ICR MS. **Analytical Chemistry**, v. 82, p. 3990-3996, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac100673v>

DA CRUZ, G. F.; MARSAIOLI, A. J. Processos naturais de biodegradação do petróleo em reservatórios. **Química Nova**, v. 35, p. 1628, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000800024>

ESCOBAR, M.; MÁRQUEZ, G.; AZUAJE, V.; DA SILVA, A.; TOCCO, R. Use of biomarkers, porphyrins, and trace elements to assess the origin, maturity, biodegradation, and migration of Alturitas oils in Venezuela. **Fuel**, v. 97, p. 186-196, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.03.002>

EXPLORAÇÃO e Produção de Óleo e Gás, 10 jul. 2020. <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/exploracao-e-producao-de-oleo-e-gas>. Acesso em: 01 ago. 2021.

FOWLER, M. G.; ABOLINS, P.; DOUGLAS, A. G. Structure and origin of terpenoid hydrocarbons in some German coals. **Organic Geochemistry**, v. 10, p. 815, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0146-6380\(90\)90142-M](https://doi.org/10.1016/0146-6380(90)90142-M)

FRANÇA, D.; COUTINHO, D. M.; BARRA, T. A.; XAVIER, R. S.; AZEVEDO, D. A. Molecular-level characterization of Brazilian pre-salt crude oils by advanced analytical techniques. **Fuel**, v. 293, p. 120474, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120474>

HEAD, I. M.; JONES, D. M.; LARTER, S. R. Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil. **Nature**, v. 426, p. 344-352, 2003. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature02134>

HEAD, I. M.; LARTER, S. R.; GRAY, N. D.; SHERRY, A.; ADAMS, J. J.; AITKEN, C. M.; JONES, D. M.; ROWAN, A. K.; HUANG, H.; ROLING, W. F. M. **Hydrocarbon Degradation in Petroleum Reservoirs**; TIMMIS, K. N., Eds.; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, cap. 54, 2010.

HUGHEY, C. A.; RODGERS, R. P.; MARSHALL, A. G.; QIAN, K.; ROBBINS, W. K. Identification of acidic NSO compounds in crude oils of different geochemical origins by negative ion electrospray Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Organic Geochemistry**, v. 33, p. 743-759, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00038-4](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00038-4)

HUGHEY, C. A.; GALASSO, S. A.; ZUMBERGE, J. E. Detailed compositional comparison of acidic NSO compounds in biodegraded reservoir and surface crude oils by negative ion electrospray Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Fuel**, v. 86, p. 758-768, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2006.08.029>

HUNT, J. M. **Petroleum geochemistry and geology** (textbook), 1996.

INOUE, N. S. **Estudo geoquímico orgânico com aplicação da quimiometria em amostras de petróleos da Bacia de Santos - aspectos: gênese, maturação e semelhanças com óleos do sudoeste africano**. Dissertação de mestrado, Unicamp, 2015. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/321519>

KIM, S.; STANFORD, L. A.; RODGERS, R. P.; MARSHALL, A.G.; WALTERS, C.C.; QIAN, K.; WENGER, L. M.; MANKIEWICZ, P. Microbial alteration of the acidic and neutral polar NSO compounds revealed by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Organic Geochemistry**, v. 36, p. 1117-1134, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.03.010>

LARTER, S.; HUANG, H.; ADAMS, J.; BENNET, B.; SNOWDON, L. R. A **practical biodegradation scale for use in reservoir geochemical studies of biodegraded oils**. *Organic Geochemistry*, v. 45, p. 66-76, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2012.01.007>

LIAO, Y.; SHI, Q.; HSU, C. S.; PAN, Y.; ZHANG, Y. Distribution of acids and nitrogen-containing compounds in biodegraded oils of the Liaohe Basin by negative ion ESI FT-ICR MS. **Organic Geochemistry**, v. 47, p. 51-65, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2012.03.006>

MACEDO, J. M. Evolução tectônica da Bacia de Santos e áreas continentais adjacentes. **Boletim de Geociências da Petrobras**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 3, p. 159-173, 1989.

MARSHALL, A. G.; RODGERS, R. P. Petroleomics: the next grand challenge for chemical analysis. **Accounts of Chemical Research**, v. 37, p. 53-59, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ar020177t>

MARTINS, L. L.; FRANKLIN, G. C.; DE SOUZA, E. S.; DA CRUZ, G. F. Terpanos pentacíclicos como indicadores de heterogeneidades composicionais em reservatório de petróleo biodegradada. **Química Nova**, v. 37, p. 1263, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140222>

MARTINS, L. L.; PUDENZI, M. A.; DA CRUZ, G. F.; NASCIMENTO, H. D. L., EBERLIN, M. N. Assessing biodegradation of Brazilian crude oils via characteristic profiles of O1 and O2 compound classes: petroleomics by negative-ion mode electrospray ionization Fourier Transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. **Energy&Fuels**, v. 31, p. 6649-6657, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b00109>

MARTINS, L. L.; DA CRUZ, G. F., SANTOS, L. C., PUDENZI, M. A., EBERLIN, M. N. Avaliação da extensão da biodegradação de petróleos brasileiros com ênfase nos *n*-alquilciclohexanos. **Química Nova**, v. 42, p. 289-295, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170328>

MEILIJSON, A.; FINKELMAN-TORGEMAN, E.; BIALIK, O. M.; BOUDINOT, F. G.; STEINBERG, J.; KARCZ, Z. K.; WALDMANN, N. D.; BENJAMINI, C.; VINEGAR, H.; MAKOVSKY, Y. Significance to hydrocarbon exploration of terrestrial organic matter introduced into deep marine systems: Insights from the Lower Cretaceous in the Levant Basin, **Marine and Petroleum Geology**, v. 122, p. 104671, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2020.104671>

MIO, E. DE; CHANG, H. K.; CORRÊA, F. S. Integração de métodos geofísicos na modelagem crustal da Bacia de Santos. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 23, n. 3, p. 275-284, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-261X2005000300006>

MOREIRA, J. L. P.; MADEIRA, C. V.; GIL, J. A.; MACHADO, M. A. P. Santos Basin | Bacia de Santos. **Boletim de Geociências da Petrobras**, v. 15, p. 531–549, 2007.

OLDENBURG, T. B. P.; BROWN, M.; BENNET, B.; LARTER, S. R. The impact of thermal maturity level on the composition of crude oils, assessed using ultra-high resolution mass spectrometry. **Organic Geochemistry**, v. 75, p. 151–168, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2014.07.002>

PEREIRA, M. J.; MACEDO, J.M. A Bacia de Santos: perspectivas de uma nova província petrolífera na plataforma continental sudeste brasileira. **Boletim de Geociências da Petrobras**, v. 4, p. 3-11, 1990.

PETERS, K. E.; MOLDOWAN, J. M. Effects of source, thermal maturity, and biodegradation on the distribution and isomerization of homohopanes in petroleum. **Organic Geochemistry**, v. 17, p. 47–61, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0146-6380\(91\)90039-M](https://doi.org/10.1016/0146-6380(91)90039-M)

PETERS, K. E.; FOWLER, M. G. Applications of petroleum geochemistry to exploration and reservoir management. **Organic Geochemistry**, v. 33, p. 5-36, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(01\)00125-5](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(01)00125-5)

PETERS, K. E.; WALTERS, C. C.; MOLDOWAN, J. M. **The Biomarker Guide: Biomarkers and Isotopes in the Petroleum Exploration and Earth History**. Cambridge University Press, Cambridge, v. 2, 2005.

PHILP, 1985. **Fossil Fuel biomarkers: Applications and Spectra**. (Methods in Geochemistry and Geophysics 23). New York Elsevier Science Publishers, ed. 1, p. 294, 1985.

ROCHA, Y. S.; PEREIRA, R. C. L.; MENDONÇA FILHO, J. G. Geochemical characterization of lacustrine and marine oils from off-shore Brazilian sedimentary basins using negative-ion electrospray Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (ESI FTICR-MS). **Organic Geochemistry**, v. 124, p. 29–45, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2018.05.012>

ROCHA, Y. S.; PEREIRA, R. C. L.; MENDONÇA FILHO, J. G. Geochemical assessment of oils from the Mero Field, Santos Basin, Brazil. **Organic Geochemistry**, v. 130, p. 1–13, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2019.01.011>

ROCHA, Y. S.; PEREIRA, R. C. L.; MENDONÇA FILHO, J. G. Petroleômica: Fundamentos e Aplicações na Caracterização Geoquímica de Petróleos e Rochas Geradoras. **Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ**, v. 42, p. 196-208, 2019a. Disponível em: https://doi.org/10.11137/2019_1_196_208

RODGERS, R. P.; SCHAUB, T. M.; MARSHALL, A. G. Petroleomics: MS returns to its roots. **Analytical Chemistry**, v. 77, p. 22–27, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac053302y>

RODGERS, R. P.; MCKENNA, A. M. Petroleum analysis. **Analytical Chemistry**, v. 83, p. 4665–4687, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac201080e>

RICCOMINI, C.; SANT´ANNA, L. G.; TASSINARI, C. C. G. Pré-sal: geologia e exploração. **Revista USP**, v. 95, p. 33-42, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9036.v0i95p33-42>

VANINI, G.; BARRA, T. A.; SOUZA, L. M.; MADEIRA, N. C. L.; GOMES, A. O.; ROMÃO, W.; AZEVEDO, D. A. Characterization of nonvolatile polar compounds from Brazilian oils by electrospray ionization with FT-ICR MS and Orbitrap-MS. **Fuel**, v. 282, p. 118790, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118790>

VAZ, B. G.; SILVA, R. C.; KLITZKE, C. F.; SIMAS R. C.; NASCIMENTO, H. D. L.; PEREIRA, R. C. L.; GARCIA, D. F.; EBERLIN, M. N.; AZEVEDO, D. A. Assessing biodegradation in the Llanos Orientales crude oils by electrospray ionization ultrahigh resolution and accuracy Fourier transform mass spectrometry and chemometric analysis. **Energy&Fuels**, v. 27, p. 1277-1284, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ef301766r>

WENGER, L. M.; DAVIS, C. L.; ISAKSEN, G. H. Multiple controls on petroleum biodegradation and impact on oil quality. **SPE Reservoir Evaluation&Engineering**, v. 5, p. 375, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.2118/80168-PA>

YUE H.; VIETH-HILLEBRAND A.; HAN Y.; HORSFIELD B.; SCHLEICHER A.; POETZ S. Unravelling the impact of lithofacies on the composition of NSO compounds in residual and expelled fluids of the Barnett, Niobrara and Posidonia formations. **Organic Geochemistry**, v. 155, p. 104225, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2021.104225>