# 4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO PETRÓLEO

A composição do petróleo é uma mistura complexa de inúmeros compostos orgânicos, predominando hidrocarbonetos saturados e aromáticos. Outros compostos, contendo, além de carbono e hidrogênio, são encontrados no petróleo. Esses elementos são chamados heteroatômicos e contêm um ou mais átomos de nitrogênio, enxofre e oxigênio, formando os compostos NOS. Os compostos orgânicos podem ser encontrados sob a forma gasosa, líquida, sólida, em poros e fraturas, em geral de rochas sedimentares (TISSOT & WELTE, 1984).

Os hidrocarbonetos são grupos de compostos químicos constituídos essencialmente de carbono e hidrogênio em suas moléculas. A composição do petróleo pode ser classificada em função da presença dos hidrocarbonetos. Dividem-se em compostos alifáticos (n-alcanos, isoalcanos e alcenos ou olefinas), compostos cíclicos (cicloalcanos) e compostos aromáticos incluindo os cilcoalcanoaromáticos. De acordo com Tissot & Welte (1984) e Hunt (1995), 33.6% do peso do óleo é constituído de *n*-alcanos e isoalcanos; 31.9% de cicloalcanos e os aromáticos correspondem a 34.5% do óleo.

# 4.1 Hidrocarbonetos Alifáticos ou Acíclicos

Os hidrocarbonetos acíclicos apresentam a cadeia carbônica aberta. Os mais abundantes em geoquímica são os alcanos: n-alcanos (alcanos normais) e isoalcanos (alcanos ramificados) (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

### 4.1.1 <u>*n*-alcanos ou alcanos normais</u>

Os *n*-alcanos apresentam a fórmula geral  $C_nH_{2n}+2$  e possuem a cadeia aberta e sem ramificações, com ligações simples entre seus átomos (Figura 14). Todos os nalcanos que apresentam de 1 a 40 átomos de carbono podem ser encontrados no petróleo, com concentrações variando de 15 a 20%. As concentrações podem ser mais baixas em óleos degradados ou elevadas nos óleos leves (TISSOT& WELTE, 1984).





## 4.1.2 Alcanos Ramificados

Os alcanos ramificados possuem a fórmula geral  $C_nH_{2n+2}$  e apresentam a cadeia aberta com ramificações. São classificados como isoalcanos (alcanos ramificados de baixo peso molecular) e isoprenóides (alcanos ramificados de médio peso molecular), que são os mais importantes por serem encontrados em maior concentração nos óleos.

# 4.1.2.1 Isoalcanos

Os isoalcanos podem chegar a 1% de concentração nos óleos crus. A maior concentração individual de isoalcanos no petróleo é entre o C<sub>6</sub> e C<sub>8</sub>, sob a forma de 2 metil hexano e 2 metil heptano (TISSOT& WELTE, 1984; HUNT, 1995).

# 4.1.2.2 Isoprenóides

São alcanos ramificados formados a partir de várias unidades de isopreno  $C_5$ , com grupo de metila localizado a cada quatro átomos de carbono. Os Isoprenóides mais abundantes no petróleo são o pristano e fitano, somando mais de 55% de todos os Isoprenóides acíclicos. E possuem grande importância no estudo da gênese do petróleo (TISSOT & WELTE, 1984).

## 4.2 Hidrocarbonetos Cíclicos

Os hidrocarbonetos cíclicos apresentam a cadeia fechada ou cíclica. Nos cicloalcanos de baixo peso molecular (menos que dez átomos de carbono), também chamados naftenos, o metilciclohexano é o mais abundante no petróleo, apresentando concentração de até 2,4% em alguns óleos (HUNT, 1995). Nos cicloalcanos de elevado

peso molecular ( $C_{10}$  a  $C_{35}$ ), os terpanos e hopanos são os mais estudados em geoquímica, produzidos pelo arranjo de um a seis ciclos (PETERS & MOLDOWAN, 1993). Devido a sua estabilidade durante os processos intempéricos eles são importantes biomarcadores (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

# 4. 2.1 Terpanos

Os terpanos pentacíclicos ou hopanos apresentam 27 até 35 átomos de carbono, uma estrutura composta por 4 anéis de seis membros e 1 anel de cinco membros.

Já os terpanos tricíclicos são formados por 3 anéis de seis membros com 19 até 40 átomos de carbono. Estes estão em concentrações inferiores aos pentacíclicos e são os menos abundantes na família dos terpanos.

## 4.2.2 Esteranos

Os esteranos apresentam 27 a 29 átomos de carbono em sua cadeia fechada. Sua estrutura é composta por três anéis de seis membros e um anel de cinco membros. No petróleo estão em concentrações menores que os terpanos.

#### 4.2.3 Aromáticos

São os hidrocarbonetos que possuem um ou mais anéis benzênicos na sua cadeia principal. O benzeno é o composto mais simples desta classe e possui seis átomos de carbono em sua cadeia cíclica insaturada. Os compostos de baixo peso molecular encontrados no petróleo, como o benzeno, tolueno, etil benzeno e os isômeros orto, meta e para do xileno são muito voláteis e parcialmente solúveis em água, contribuindo para o processo de *water washing*.

Os compostos chamados hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) (naftaleno, antraceno, fenantreno, pireno e criseno entre outros) possuem anéis variando de dois a quatro e também são encontrados no petróleo.

## 4.3 Compostos NOS

A estrutura dos hidrocarbonetos pode apresentar nitrogênio, enxofre e oxigênio. Estes compostos são chamados NOS ou heteroátomos e se caracterizam pela elevada eletronegatividade e alta polaridade.

Os heteroátomos ligam-se aos átomos de carbono e hidrogênio e formam grupos estruturais que reagem sempre do mesmo modo e caracterizam as propriedades dos compostos orgânicos que os contêm.

Os compostos NOS são considerados a fração mais polar do petróleo, sendo formados por estruturas de baixo peso molecular e estruturas complexas com núcleos de compostos policíclicos aromáticos ou naftenoaromáticos, como as resinas e asfaltenos.

As resinas são constituídas de piridinas, quinolinas, carbazóides e amidas que contém átomo de nitrogênio em suas moléculas e são solúveis em n-hexano. Entretanto, os asfaltenos contêm o átomo de oxigênio em sua constituição e apresentam em suas estruturas fenóis, ácidos graxos, cetonas e ésteres, não sendo solúveis em n-hexano (TISSOT& WELTE, 1984; Hunt, 1995).

O enxofre é identificado no petróleo através de três classes principais: mercaptans, sulfetos orgânicos e tiofeno. Esse composto é considerado o terceiro átomo mais abundante no óleo, podendo atingir até 0.6% de concentração. Durante a biodegradação, processo de alteração do óleo após sua acumulação, o enxofre e demais compostos NOS tendem a aumentar sua concentração no petróleo e são menos suscetíveis a biodegradação (PETERS & MOLDOWAN, 1993).

# 5 PROCESSOS DE ALTERAÇÃO DO ÓLEO PÓS ACUMULAÇÃO

Os principais processos de alteração do óleo após sua acumulação no reservatório são o *water washing* e a biodegradação do petróleo. A degradação do óleo ocorre através dos microorganismos degradadores do petróleo e será abordado com mais ênfase nesta pesquisa, pois foi o observado na área de estudo.

#### 5.1 Water Washing

O *water washing* é um processo na qual a fase aquosa entra em contato com o óleo do reservatório. Assim, grande quantidade de água pode estar presente na fase de hidrocarbonetos e estes podem dissolver-se na água. Diz-se que o óleo foi lavado pela água, processo chamado de *water washing*. Devido a esse processo, ocorre uma alteração na composição do óleo, na qual os compostos mais solúveis são removidos (LAFARGUE & THIEZLE, 1994). Os gases leves e compostos aromáticos de baixo peso molecular como o benzeno, tolueno, ethylbenzeno e xileno são os hidrocarbonetos mais afetados por esse processo e diminuem sua concentração rapidamente (SHAKIR & HEMPTINNE, 2007).

De acordo com Peters & Moldowan (1993), o processo de *water washing* induz pequenas mudanças nas propriedades químicas e físicas do petróleo se comparado com o processo de biodegradação. Portanto, a degradação do óleo por microorganismos é mais significativa na alteração do óleo pós acumulação.

### 5.2 Biodegradação do Petróleo

Biodegradação de petróleo é uma alteração do óleo bruto por microrganismos (bactérias, fungos, leveduras, cianobactérias, algas e protozoários) presentes nas águas meteóricas (CERNIGLIA & GIBSON, 1977, 1979; OUDOT et al, 1987; MACGILLIVARY & SHIARIS, 1993). Estes microorganismos consomem hidrocarbonetos saturados e aromáticos por vias metabólicas. A utilização dos

hidrocarbonetos pelas bactérias constitui um processo em que esses compostos são oxidados por reações padronizadas, catalisadas por enzimas (RODRIGUES, 1984).

Na biodegradação de petróleo ocorre o processo de oxidação de hidrocarbonetos, na qual o hidrocarboneto é preferencialmente consumido, formando novos compostos como CO<sub>2</sub>, água e espécies parcialmente oxidadas, tais como ácidos orgânicos (COOKSON, 1995). Este processo altera negativamente as propriedades, a qualidade e o valor econômico do petróleo. O óleo torna-se enriquecido de nitrogênio, enxofre e compostos NSO (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

A qualidade do petróleo e o volume decrescem com o aumento da biodegradação, enquanto os gases não hidrocarbonetos, viscosidade, compostos NOS, enxofre, resinas, asfaltenos e metais traços aumentam.

Os microrganismos necessitam de condições ambientais de crescimento. Por sua vez, a velocidade e a extensão com que os componentes do petróleo são degradados dependem da existência de, pelo menos, quatro fatores principais (RODRIGUES, 1984; BAIRD, 2002).

- Umidade, para facilitar as reações;
- Oxigênio, para rápida oxidação dos hidrocarbonetos e outros compostos do petróleo. Sob condições anaeróbicas, a biodegradação é mais lenta e normalmente efetuada por bactérias sulfato-redutoras;
- Contato óleo-água, devido à relativa insolubilidade do óleo na água, controla a velocidade de oxidação e da degradação;
- Presença de nutrientes para o desenvolvimento microbiano, dentre os principais fosfatos, sulfatos e nitratos.

A maioria dos hidrocarbonetos é pouco solúvel em água. Os microorganismos existentes na água têm vários mecanismos para acessar os hidrocarbonetos. Os microrganismos aderem à superfície de grandes gotas de óleo devido à hidrofobicidade das células. Em seguida, as células aderidas formam uma camada delgada na interface óleo/água, extraindo os compostos insolúveis em água da fase oleosa e utilizando os sais minerais da fase aquosa. Quando as células revestem as gotas de óleo, produzindo biossurfactantes, a tensão interfacial disponível é reduzida para o crescimento microbiano. Quando o composto oleoso contido nas gotas desaparece, os

microorganismos colonizam outras gotas. Enzimas também são excretadas, reagindo com hidrocarbonetos e biopolímeros, convergindo eles em compostos solúveis em águas, que difundem para os organismos (PETERS & MOLDOWAN, 1993; ASCON-CABRERA & LEBEAULT, 1995).

## 5. 2.1 Microorganismos Capazes de Degradar Hidrocarbonetos

As bactérias, os fungos e as leveduras são os principais microorganismos capazes de degradar hidrocarbonetos do petróleo. Eles são encontrados em ambientes marinhos, ambientes de água doce e no solo. Os organismos podem metabolizar somente um número limitado de hidrocarbonetos isoladamente, de forma que é requerida uma mistura de populações com capacidade enzimática para degradar todos os hidrocarbonetos encontrados no petróleo.

Existem, pelo menos, 25 gêneros de bactérias e 27 de fungos que fazem a degradação dos hidrocarbonetos no ambiente marinho (FLOODGATE, 1984), enquanto que nos solos são registrados 22 gêneros de bactérias e 31 de fungos (BOSSERT & BARTHA, 1984; ROSATO, 1997). Os fungos parecem ser mais importantes na biodegradação de hidrocarbonetos presentes em solos (JONES & EDDINGTON, 1968; ROSATO, 1997). Em geral, as bactérias e leveduras apresentam capacidade decrescente de degradação de acordo com o aumento da cadeia carbônica ao passo que os fungos não exibem degradação preferencial de tamanho (WALKER et al., 1975).

## 5.2.2 Efeitos de fatores físicos e químicos na biodegradação

As taxas de biodegradação do óleo são influenciadas principalmente pela temperatura, salinidade da água, disponibilidade de nutrientes, pH e níveis de oxigênio (KENNISH, 1996). De acordo com KENNISH (1997), os alcanos de baixo peso molecular degradam-se rapidamente (em até uma semana), enquanto que os hidrocarbonetos de alto peso molecular (alifáticos e aromáticos) sofrem lenta degradação.

A temperatura influencia a biodegradação pelo efeito na natureza física e química do petróleo e também pela alteração na população microbiana. A temperatura do reservatório é o principal fator que limita a biodegradação. A biodegradação dos hidrocarbonetos pode ocorrer numa faixa de temperatura relativamente grande, de 0° a 80°C (SORKHOH et al, 1993), atingindo seu ápice na superfície ou na sub-superfície com temperatura variando de 60 a 80°C (PETERS & MOLDOWAN, 1993). De modo geral, com a baixa temperatura, a viscosidade do óleo aumenta, a volatilização dos alcanos de cadeia curta é reduzido, o que leva a um processo de biodegradação mais lento.

A biodegradação do óleo ocorre em reservatórios que apresentam água de formação com baixa salinidade, menor que 100-150 ppt. Reservatórios com óleos que apresentam alta salinidade não são biodegradados, já que a água com alta salinidade limita o crescimento de bactérias (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

O petróleo é composto, principalmente, de hidrocarbonetos que podem servir como fonte de carbono para o desenvolvimento de microorganismos. Porém, para que se processe a biodegradação há necessidade de nutrientes como os inorgânicos nitrogênio e fósforo, que são requeridos em maior quantidade. Há também a necessidade de micronutrientes tais como enxofre, ferro, magnésio, cálcio e sódio. A disponibilidade desses elementos varia em diferentes ambientes (KENNISH, 1996).

O pH varia com valores de 2,5 a 11 para diferentes tipos de solos. A maioria das bactérias e fungos apresentam uma melhor taxa de desenvolvimento em pH neutro, podendo ocorrer o dobro da taxa de biodegradação com a correção do pH do solo (VERSTRETE et al, 1976; BOSSET & BARTHA, 1984; ROSATO, 1997).

A presença de oxigênio é um fator determinante para a biodegradação aeróbica, pois estes compostos servem de aceptor elétrico terminal e como reagente necessário para ativação de hidrocarbonetos, convertendo-os em intermediários oxigenados. Entretanto, a via de degradação do óleo pelos organismos anaeróbicos é diferente dos aeróbicos. A biodegradação anaeróbica é feita pelas bactérias redutoras de sulfato e dependem de um aceptor de elétron diferente do oxigênio, como nitrato, sulfato e ferro. O manganês e moléculas orgânicas como quinonas podem ser aceptores de elétrons (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

#### 5.2.3 Biodegradação aeróbica e anaeróbica

A degradação aeróbica e anaeróbica ocorre em reservatórios com temperaturas menores ou iguais a 80°C. Condições óxidas na sub-superfície pode ser mantida somente pelo transporte de oxigênio dissolvido na água meteórica.

A degradação microbiológica anaeróbica não precisa dos mesmos aceptores elétricos necessários para degradação aeróbica. Geralmente são os aceptores que limitam a degradação anaeróbica.

Degradação aeróbica é dominante em superfície, em derrames e escoamento de óleo, em reservatórios rasos, reservatórios *onshore* com influxo hidrodinâmico de águas meteóricas e em "areias betuminosas". Biodegradação anaeróbica domina em condições anóxicas de sub-superfície, mas isso ainda não foi provado. Autores encontraram em reservatórios profundos, com temperatura < 60°C, somente bactérias anaeróbicas, pois nesses ambientes ocorre a depleção de nutrientes que são necessários a degradação aeróbica (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

# 5.2.4 Efeitos da biodegradação no Petróleo

O primeiro indicativo de biodegradação geralmente ocorre pela remoção dos *n*alcanos. Esteranos regulares e os alquilados aromáticos são mais suscetíveis à biodegradação, seguidos dos hopanos, esteróides aromáticos, diasteranos e terpanos tricíclicos. Os isoprenóides Pristano e Fitano são conservados somente nos primeiros estágios da biodegradação. No estágio avançado de biodegradação os 25-norhopanos e secohopanos são formados (Figura 15). Essa sequência de biodegradação pode variar, os hopanos podem ser destruídos antes de todos os esteranos, entretanto os hopanos são considerados mais resistentes à biodegradação que os esteranos. A sequência dependerá da energia do ambiente que influenciará as condições aeróbicas (PETERS & MOLDOWAN, 2005).



Figura 15: Sequência de grupos moleculares em níveis crescentes de biodegradação. As setas indicam as classes que são primeiramente alteradas (linha tracejada), substancialmente alteradas (linha cinza) e completamente alteradas (linha preta). Fonte - (modificada de WENGER et. al., 2002 *apud* PETERS & MOLDOWAN, 2005).

A suscetibilidade de biodegradação do composto individual de biomarcadores dentro de cada classe pode sofrer variação, alguns compostos podem ser removidos antes que outros sejam afetados. Essa variação depende do número de carbono na sequência, estrutura ou configuração isomérica, ou pode resultar de uma complexa relação microbiana (PETERS & MOLDOWAN, 2005) (Tabela I).

Os *n*-alcanos que apresentarem um menor número de carbono na molécula ( $C_{8}$ - $C_{12}$ ) serão removidos nos primeiros estágios de biodegradação. O nível de biodegradação destes compostos está diretamente relacionado ao comprimento de sua cadeia carbônica. O padrão de biodegradação para esses compostos são:  $C_{8}-C_{12}>C_{6}-C_{8}$ ,  $C_{12}-C_{15}>C_{6}-e$   $C_{15+}$  (PETERS & MOLDOWAN, 2005). As moléculas que contêm até nove átomos de carbono ( $C_{9}$ ) comportam-se como solvente, evaporam com mais facilidade e rompem a membrana celular dos microorganismos, dificultando a degradação biológica. As moléculas de cadeias intermediárias ( $C_{10}$  a  $C_{20}$ ) se degradam rapidamente, já as de cadeia longa (>  $C_{20}$ ) são hidrofóbicas, dificultando sua degradação. Alguns óleos de origem marinha, durante a biodegradação, são enriquecidos de *n*-alcanos  $C_{35+}$  (GREENWOOD et. al., 2003).

Os alcanos ramificados sofrem  $\beta$ -oxidação, como via degradativa mais comum, com formação de ácidos dicarboxílicos (FALL et al, 1979). Os grupos metil aumentam a resistência dos hidrocarbonetos ao ataque microbiano. O cicloalcano é particularmente resistente à biodegradação (CHOSSON et al, 1991), porém estudos mostram que hidrocarbonetos cíclicos, até seis anéis condensados, podem ser degradados (WALKER et al, 1975).

Os isoalcanos, se comparados com os n-alcanos, degradam mais lentamente. Entretanto, em ambientes naturais ou nos reservatórios, os isoalcanos se misturados aos *n*-alcanos, diminuem seu grau de biodegradação, pois são reprimidos pela presença dos alcanos normais.

Os cicloalcanos são mais resistentes à degradação se comparados aos *n*alcanos, pois possuem cadeias fechadas. O grau de biodegradação dos cicloalcanos depende de suas cadeias estruturais, ou seja, quando apresentam cadeias mais complexas, o grau de dificuldade dos microorganismos degradadores será maior. O número de bactérias capazes de degradar esse composto é menor se comparado aos alcanos normais e isoalcanos. Dentre os cicloalcanos, os terpanos tricíclicos são mais resistentes a biodegradação, se comparados aos pentacíclicos. Nos esteranos os aca 20R são mais suscetíveis à biodegradação. Seguido dos  $\alpha\beta\beta$  20R,  $\alpha\beta\beta$ ,  $\alpha\alpha\alpha$  29S, diasteranos C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub>, C<sub>29</sub> e C<sub>30</sub>. Os esteranos C<sub>27</sub>-C<sub>29</sub> são destruídos completamente antes da alteração dos diasteranos (PETERS & MOLDOWAN, 1993).

| Classes    |                                       | Biodegradação   |  |
|------------|---------------------------------------|---|--|
| Baix       | ka <i>n</i> -alcanos                  | $C_3 \sim C_8 - C_{12} > C_6 - C_8 \sim C_{12} - C_{15} > C_{6-} \sim C_{15+}$  |  |
|            | Alcanos Ramificados                   | Monometil>polimetil>altamente ramificado  |  |
|            | Isoprenóides Acíclicos                | Baixo peso molecular (~ $C_{10}$ )> alto peso molecular (~ $C_{20}$ )   |  |
| radação    | Hopanos (25 norhopanos<br>formados)   | Quando os 25 norhopanos estão formados, os microorganismos degradam 22R>22S para homopanos e favorecem $C_{27}$ - $C_{32}$ > $C_{33}$ > $C_{34}$ > $C_{35}$ 17 $\alpha$ -hopanos (Peters e Moldowan, 1991). Entretanto, Rullkötter e Wendish (1982) observaram que os homólogos maiores de series $C_{27}$ - $C_{32}$ são degradados mais rápidos que os homólogos menores. |  |
| siodeg     | Esteranos (25 norhopanos<br>formados) | ααα 20R e αββ 20R>ααα 20S e αββ 20S<br>C <sub>27</sub> >C <sub>28</sub> >C <sub>29</sub> >C <sub>30</sub>   |  |
| lível de E | Esteranos (25 norhopanos<br>ausentes) |   |  |
| Z          | Hopanos (25 norhopanos<br>ausentes)   | Quando os 25 norhopanos estão ausentes o ataque dos microorganismos favorecem $C_{35}>C_{34}>C_{33}>C_{32}>C_{31}>C_{30}>C_{29}>C_{27}$ e 22R>22S   |  |
|            | Diasteranos                           | C <sub>27</sub> >C <sub>28</sub> >C <sub>29</sub>   |  |
|            | Triterpanos não<br>hopanóides         | Gamacerano e oleanos são mais resistentes<br>que os hopanos   |  |
|            | Esteróides Aromáticos                 | $C_{20}$ - $C_{21}$ triaromáticos> $C_{27}$ > $C_{28}$ > $C_{29}$ 20R<br>monoaromáticos~ $C_{26}$ - $C_{28}$ > 20R triaromático><br>$C_{21}$ , $C_{22}$ monoaromáticos  |  |
| AI         | ta                                    |   |  |

Tabela 1: Biodegradação observada dentro das classes de cada composto.

Fonte - (modificada de PETERS & MOLDOWAN, 2005).

O grau de biodegradação dos hidrocarbonetos aromáticos está relacionado ao número de anéis presentes na sua estrutura, posições, tipos e natureza das ramificações presentes na molécula. A biodegradação aeróbica se inicia pelos compostos mais simples, com a oxidação do átomo de hidrogênio do ciclo e depende da capacidade das enzimas incorporarem átomos de oxigênio à estrutura do anel aromático (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são poucos solúveis em água, e se tornam menos disponíveis aos microorganismos degradadores, dificultando sua biodegradação. Eles são recalcitrantes e sua toxidade aumenta de acordo com o número de anéis (BAKER & HERSON, 1994; ROSENBERG & RON, 1996).

Os compostos NOS são considerados o grupo de compostos presentes no petróleo, mais resistentes à biodegradação. Rosenberg & Ron (1996) observaram a degradação de compostos nitroaromáticos em ambientes aeróbicos e verificaram a capacidade de alguns microorganismos em aproveitá-los como fonte de carbono e nitrogênio. Algumas bactérias do gênero *Pseudomonas*, capazes de degradar o enxofre, foram isoladas e analisadas. Os pesquisadores constataram que quanto maior o número de átomos de carbono da cadeia alquilada, menor a taxa de biodegradação (ALEXANDER, 1999).

A degradação de compostos contendo oxigênio ainda foi pouco estudada, pois é um composto mais complexo, porém foi observado que estes compostos podem ser metabolizados, em ambientes aeróbicos, por bactérias do gênero *Pseudomonas*. A degradação dos compostos fenólicos e ácidos graxos é mais simples, e ocorre através do mecanismo da β-oxidação (ROSENBERG & RON, 1996).

#### 6 **BIOMARCADORES**

Os biomarcadores são fósseis moleculares constituídos de carbono, hidrogênio e outros elementos derivados de biomoléculas encontrados em organismo viventes. São compostos cuja estrutura pode ser interpretada em termos de origem biológica. Podem ser encontrados em rochas, sedimentos e carvão e são usados como indicadores de ambiente deposicional de óleos e rochas geradoras, determinação do grau de maturação térmica da matéria orgânica e grau de biodegradação de petróleo. Esses marcadores biológicos apresentam pequena ou nenhuma mudança estrutural em relação às moléculas orgânicas das membranas plasmáticas dos organismos vivos (procarióticos ou eucarióticos) (EGLINTON, et al., 1961; PHILP, 1985).

Para ser considerado um biomarcador um composto orgânico deve apresentar algumas características: grandes concentrações em organismos vivos com especiações; sua estrutura química deve mostrar informações que indiquem sua origem biológica e a estrutura do composto deve ser quimicamente estável quando for submetida aos processos de sedimentação e soterramento da matéria orgânica (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

O grupo de biomarcadores mais abundantes são os hidrocarbonetos acíclicos (*n*alcanos, isoalcanos ou isoprenóides), que apresentam baixa sensibilidade a mudanças estruturais no processo de formação de petróleo e são precurssores das algas marinhas; posteriormente, os cíclicos e os aromáticos (TISSOT, et.al., 1984; KILLOPS & KILLOPS, 1994; HUNT, 1995) (Tabela 2). De acordo com a maturação térmica dos óleos nos reservatórios, os óleos mais evoluídos termicamente apresentam maiores quantidades de hidrocarbonetos saturados se comparados com os aromáticos e compostos altamente polares (NOS).

| Biomarcador  | Estrutura genérica   | Precursor               | Informação  |
|--|--|-------------------------|---|
| <i>n</i> -alcano (C <sub>15,</sub> C <sub>17</sub> , C <sub>19</sub> )           | m/z 85   | Algas marinhas          | Origem da matéria orgânica  |
| n-alcano (C <sub>25</sub> , C <sub>27</sub> , C <sub>29</sub> ,C <sub>31</sub> ) | m/z 85   | Plantas terrestes       | Origem da matéria orgânica  |
| Pristano e Fitano  | Pristano   | Organismos fototróficos | Tipo de ambiente<br>deposicional  |
| Terpanos tricíclicos   | R  | Organismos procariontes | Grau de maturação   |
| Hopanos  | m/2 191  | Organismos procariontes | Grau de maturação da<br>matéria orgânica  |
| Gamacerano   | CHART C  | Protozoas               | Condições de<br>hipersalinidade   |
| Esteranos  | m/2 217<br>m/2 21 | Organismos eucariontes  | <ul> <li>Grau de maturação da<br/>matéria orgânica</li> <li>Origem da matéria<br/>orgânica</li> </ul> |
| Diasteranos  | R<br>R   | Organismos eucariontes  | Grau de maturação da<br>matéria orgânica  |

Tabela 2: Principais biomarcadores em geoquímica orgânica e respectivas informações.

Fonte - (WAPLES & MACHIHARA, 1991; PETERS & MOLDOWAN, 1993).

## 6.1 *n*-Alcanos ou alcanos normais

Os *n*-alcanos são os marcadores biológicos mais comuns, devido sua baixa sensibilidade para mudanças estruturais durante o processo de formação do petróleo, quando comparados com outros compostos (Figura 16).



Figura 16: Estrutura molecular do *n*-alcano C<sub>14</sub>H<sub>30</sub> e seu respectivo íon característico.

Os *n*-alcanos são considerados os mais facilmente degradáveis e já foi comprovada a biodegradação de até C<sub>44</sub>. A biodegradação dos *n*-alcanos procede normalmente por um ataque monoterminal: há formação de um álcool primário, seguido de um aldeído e um ácido (Figura 17). O ácido carboxílico é degradado via  $\beta$ -oxidação com a formação de ácidos graxos com dois carbonos a menos e a formação de acetil-coenzima A, com liberação eventual de CO<sub>2</sub>. Pode haver a acumulação de ácidos graxos tóxicos durante o processo de biodegradação (PETERS & MOLDOWAN, 2005).



Figura 17: Biodegradação de um n-alcano. Fonte - (BENTO et al., 2004).

Os hidrocarbonetos saturados são estudados para determinar parâmetros referentes ao grau de evolução térmica das rochas geradoras, tipo e origem de matéria orgânica. Aqueles de origem continental (derivados de plantas terrestres) apresentam predominância de mais alta massa molecular  $C_{25}$  até  $C_{33}$ , já nos de origem marinha predominam n-alcanos de baixa massa molecular  $C_{15}$  até  $C_{17}$ . Estes compostos também são usados para estudar o grau de biodegradação do óleo, já que se degradam com mais facilidade por organismos degradadores (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

## 6.2 Isoprenóides

Os isoprenóides mais estudados são: o pristano  $C_{19}$  e fitano  $C_{20}$ . Eles derivam da cadeia lateral fitol da clorofila presente em organismos fototróficos. Em condições óxidas o fitol é oxidado a ácido fitênico, descarboxilado a pristeno e reduzido a pristano. Já sob condições anóxidas, a cadeia lateral fitil é clivada, produzindo o fitol que é reduzido para dihidrofitol e em seguida para fitano (Figura 18).

São estudados para indicar o tipo de paleoambiente deposicional. Geralmente o pristano é mais abundante que o fitano e sua predominância podem aumentar de 4 a 10 vezes nos óleos com elevado teor de parafina (TISSOT & WELTE, 1984).



Figura 18: Estruturas moleculares do fitol e dos isoprenóides pristano e fitano.

# 6.3 Terpanos

Os terpanos pentacíclicos ou hopanos derivam de reações de redução e desidratação do bacteriohopanoterol, oriundo de membranas de organismos procarióticos que ocorrem durante a diagênese.

Os hopanos apresentam o íon de fragmentação m/z 191, formado pela clivagem do anel C, incluindo os anéis A e B da molécula. E um segundo íon de fragmentação, o m/z 148 + R, baseado nos anéis D e E; o R se refere a massa da cadeia lateral R, a relação m/z do íon dependerá do número de átomos de carbono do radical R (PETERS & MOLDOWAN, 1993).

O bacteriohopanotetrol apresenta a configuração estereoquímica 17 $\beta$ (H), 21  $\beta$ (H) e a configuração R no C-22. Durante o processo de maturação estas estruturas se tornam mais estáveis, adquirindo a configuração 17 $\alpha$  (H), 21  $\beta$ (H) e os epímeros R e S na posição C<sub>22</sub> nos homólogos C<sub>31</sub> e superiores. O moretano com estereoquímica 17 $\beta$ (H), 21 $\alpha$ (H,) também diminui sua concentração com o aumento da maturidade do óleo (KVENVOLDEN et. al., 1990) (Figura 19).



Figura 19: Origem dos hopanos derivados do bacteriohopanoterol. (1)Encontrado em membrana lipídicas de organismos procariontes. Configuração biológica [17 $\beta$ (H), 21  $\beta$ (H), 22R] o bactriohopanotetrol e seu produto saturado (2) instáveis na catagêneses e submetem-se à isomerização para configurações geológicas (3,4 e 5). Configuração 17 $\beta$ (H), 21 $\alpha$ (H) é denominada moretano (3) e os outros hopanos (2,4 e 5). Fonte - (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

O gamacerano é derivado do tetrahimano (gamacer-3β-ol), um lipídio que substitui os esteróis na membrana de alguns *protozoas*. Este não-hopanóide é indicativo de ambiente deposicional hipersalino marinho e não marinho.

Quando ocorre a biodegradação, os hopanos são demetilados e outro íon de fragmentação é originado, o m/z 177. Muitos óleos biodegradados apresentam os 25norhopanos, caracterizando uma acentuada biodegradação do óleo (Figura 20 e 21) (PETERS & MOLDOWAN, 2005).



Figura 20: Fragmentação do íon 191 e íon 177, este último apresenta um grupo de metila retirado do  $C_{10}$ .

Fonte - (PETERS & MOLDOWAN, 2005).



Figura 21: Cromatogramas de massa dos íons m/z 191 e m/z 177 indicam que os 25norhopanos (caracterizado pelo número de carbono demetilado) ocorre em grande abundância no óleo do Oeste da Venezuela. Linha vertical indica alguns picos ambos dos íons m/z 191 e m/z 177.

Fonte - (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

# 6.4 Esteranos

Os esteranos derivam de reações de desidratação e redução que ocorrem durante a diagênese de esteróis presentes nas membranas de organismos eucarióticos (algas e plantas terrestres). Eles podem indicar a origem da matéria orgânica e o nível de biodegradação do óleo (Figura 22) (PETERS & MOLDOWAN, 2005).



Figura 22: Estrutura química dos esteranos e seu sistema de numeração, íon de fragmentação característica de m/z 217 e origem de esteranos em petróleo derivados do esterol (1). De acordo com a estereoquímica os círculos abertos indicam posição  $\alpha$  e fechados indicam posição  $\beta$  do hidrogênio. A configuração biológica [14 $\alpha$ (H), 17  $\alpha$ (H), 20 R] é indicativo do precursor esterol e seu produto saturado (2). Esterano gerado pela ação de enzimas em organismos vivos, estável durante a catagênese e isomerizando para configurações geológicas (3, 4 e 5), são produtos diagenéticos. Fonte - (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

A estereoquímica R é herdada dos precursores esteróis e a epimerização para o isômero S acontece geologicamente (evolução térmica), ocorrendo a formação de uma mistura dos epímeros derivados biologicamente R e dos formados geologicamente, os epímeros S. Os valores de equilíbrio da razão S/S+R ocorrem entre 50-60%.

## 6.5 Diasteranos

Os diasteranos diferem dos esteranos regulares pela substituição dos hidrogênios (nos carbonos das posições 5 e 14) pelo radical metila, além da ligação carbono-hidrogênio (nos carbonos das posições 10 e 13) no lugar do radical metila (Figura 23). Esta transformação ocorre na diagênese durante a fase de maturação termal do querogênio. Estes biomarcadores são formados pela conversão de esteróis durante a diagênese em reações catalisadas por argilas em ambientes ácidos. São

conhecidos na forma das espécies  $C_{27}$ ,  $C_{28}$ ,  $C_{29}$  e  $C_{30}$  e indicam grau de maturação da matéria orgânica e biodegradação do óleo (PETERS & MOLDOWAN, 2005).



Figura 23: Estrutura química dos esteranos rearranjados ou diasteranos (identificados pelo íon de fragmentação m/z 217). Fonte - (WAPLES & MACHIHARA, 1991).

# 6.6 **Principais Relações de Biomarcadores para Parâmetros de Biodegradação**

Alguns índices são calculados a partir das abundâncias relativas dos biomarcadores detectadas na fração de hidrocarbonetos. Esses índices são empregados como parâmetros geoquímicos, indicando estágios de evolução térmica, ambiente deposicional, e principalmente, grau de biodegradação de óleo.

## 6.6.1 <u>Relação Terpanos tricíclicos/Hopanos</u>

Os terpanos tricíclicos são mais resistentes à alteração microbiana em relação a muitos outros biomarcadores como os hopanos, tornando-se evidentes em óleos biodegradados (CONNAM et al., 1980). Devido a essa grande resistência à biodegradação, é possível, através desta relação, observar a correlação de óleos intensamente biodegradados (ALBERDI et al., 2001; SEIFERT et al., 1984).

## 6.6.2 <u>Relação Diasteranos/Esteranos</u>

Em óleos biodegradados, a relação diasteranos/esteranos regulares apresenta valores elevados devido à degradação preferencial dos esteranos regulares em relação aos diasteranos (CONNAN, 1984; PETERS & MOLDOWAN, 1993).

### 6.6.3 <u>Relação Esteranos/Hopanos</u>

A biodegradação dos esteranos e hopanos está diretamente ligada a específicos processos microbiológicos, na qual as condições ambientais e a população de microorganismos influenciam nestes processos. Em óleos altamente biodegradados os hopanos podem ser removidos antes dos esteranos. No entanto, pode ocorrer a remoção dos hopanos somente depois dos esteranos serem altamente alterados (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

Quando os hopanos são removidos antes da degradação dos esteranos a relação esteranos/hopanos apresenta valores altos. Já se os hopanos forem removidos depois da biodegradação dos esteranos a relação esteranos/hopanos apresenta valores baixos.

### 6.6.4 Relação 25-norhopano/Hopanos

Segundo Peters & Moldowan (2005), existem 3 possibilidades da origem dos 25norhopanos:

 Microrganismos produzem hopanos e norhopanos (menor quantidade que os hopanos). À medida que os hopanos são biodegradados, eles são removidos, mas os 25-norhopanos não são e permanecem no óleo tornando-se visíveis;

- Os 25-norhopanos podem ser originados pela desmetelização dos hopanos e;

- Microrganismos que contribuem para a sedimentação do carbono orgânico não produzem 25-norhopanos. Entretanto, microrganismos que são responsáveis pela degradação do óleo produzem esse composto. A degradação dos hopanos não é alterada com a formação dos 25-norhopanos (hipótese que carece de comprovação).

A possibilidade mais aceita é a segunda, na qual os 25-norhopanos são produzidos à medida que os hopanos são consumidos. Não é um resultado de conversão direta, mas uma consequência do reforço de alguma população microbiológica. Os 25-norhopanos ocorrem nos óleos somente quando os hopanos são removidos, mas estão ausentes nos óleos onde os hopanos mostram maior bioresistência que os esteranos (PETERS & MOLDOWAN, 1993).

De acordo com Peters & Moldowan, (2005), os 25-norhopanos são mais resistentes que os hopanos na biodegradação do óleo. Portanto, em óleos

biodegradados, quando ocorre a remoção dos hopanos e a formação dos 25norhopanos, a relação 25-norhopano/hopanos, é elevada.

# 7 ANÁLISE DOS RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras analisadas para esta dissertação foram coletadas na Bacia do Paraná em São Paulo, nos arenitos asfálticos, localizados no município de Anhembi, na Fazenda Betumita. Esta fazenda apresenta a principal ocorrência de arenito asfáltico exumado da Bacia do Paraná (THOMAZ-FILHO, 1982; ARAÚJO et. al., 2004).

Na Fazenda Betumita foram coletadas amostras em 5 perfis. Sendo que no perfil 1 as condições do óleo estavam mais preservados, por isso as 07 amostras coletadas neste perfil foram selecionadas para análises (Figura 24). As mesmas foram submetidas à cromatografia líquida, cromatografia gasosa e gasosa com detector de massa.



Figura 24: Amostras de 1 (base) até 7 (topo) no afloramento da Fazenda Betumita, região do Anhembi/SP.

## 7.1 Evolução térmica do óleo

A evolução térmica do óleo coletado nas amostras da área de estudo foi feita através da equação apresentada por Sofer et al. (1993). Esta equação mostra a correlação entre a razão C<sub>29</sub>ααα 20S/20R com a reflectância da vitrinita (Ro), onde: Ro=  $0,5[C_{29}\alpha\alpha\alpha (S/R)]+0,35$ . Com o aumento da evolução térmica, esta equação aumenta progressivamente até atingir valores máximos de aproximadamente 0.8%.

Esta equação foi aplicada para todas as amostras coletadas. Nas amostras de 2 a 7 a Ro apresentou valores em torno 0.8%, concluindo-se que o óleo está bastante evoluído termicamente. Já a amostra 1 apresentou um alto valor de Ro, em torno de 2.6%. Nesta amostra, os esteranos sofreram uma maior biodegradação, com isso a razão  $C_{29}\alpha\alpha\alpha S/C_{29}\alpha\alpha\alpha R$  apresentou valores altos, diferente das outras amostras que apresentaram valores constantes desta razão.

## 7.2 Biodegradação do óleo

#### 7.2.1 Cromatograma de íons totais

De acordo com os cromatogramas adquiridos, as amostras apresentaram resultados de biodegradação do óleo através da análise dos biomarcadores *n*-alcanos, isoalcanos (isoprenóides) e cicloalcanos (terpanos e esteranos). Garcia (2010), através da análise de 55 amostras da Fazenda Betumita, constatou que ocorreu uma forte biodegradação dos hidrocarbonetos. Primeiramente, foram biodegradados os hidrocarbonetos saturados, seguidos dos aromáticos e finalmente os compostos NOS. Resultado semelhante foi encontrado nesta pesquisa, onde os n-alcanos foram biodegradados anteriormente que os outros compostos.

Analisando as amostras de 1 a 4, foi observado que elas não apresentam a presença de alcanos lineares e ramificados. De acordo com o nível de biodegradação descrito por Wenger et. al. (2002 *apud* PETERS & MOLDOWAN, 2005) (Figura 15), as amostras 1, 2, 3 e 4 se enquadram no nível de biodegradação 4, alcanos lineares e isoprenóides severamente degradados e completamente eliminados das amostras analisadas (Figuras 25).

O cromatograma da amostra 5 apresentou maior proporção dos n-alcanos, em comparação com as outras amostras. Na amostra 5 os alcanos se enquadram no nível de biodegradação 1 para 2, de acordo com a figura descrita por Wenger et al. (2002 *apud* PETERS & MOLDOWAN, 2005) (Figura 15). Portanto, está menos biodegradado que os óleos das amostras de 1 a 4. A amostra 5 é caracterizada por um ambiente de interduna, e de acordo com Garcia (2010), as fácies de interduna apresentam uma grande quantidade de partículas argilo-minerais e menores permo-porosidade. Segundo Araújo (2006), as fácies de interduna da Formação Pirambóia se configuram como capa do sistema petrolífero Irati-Pirambóia, pois apresentam uma menor porosidade e permeabilidade. Ambientes com menor porosidade e permeabilidade não são propícios para o crescimento de organismos biodegradadores de óleo.

Nos cromatogramas das amostras 6 e 7 os alcanos lineares e isoprenóides estão substancialmente degradados como descrito na figura de Wenger et al. (2002 *apud* PETERS & MOLDOWAN, 2005) (Figura 15). Nessas amostras os óleos estão no nível 2 para 3 de biodegradação, embora o óleo da amostra 7 esteja ligeiramente menos biodegradado. Essas amostras estão no topo do afloramento e, portanto, mais afastadas do contato óleo/água, local mais propício ao crescimento bacteriano. Por isso, apresentam uma menor biodegradação e maior presença dos alcanos lineares e isoprenóides, quando comparados com as amostras de óleo próximo à base do afloramento.



Figura 25: Cromatograma de íons totais (TIC) das amostras de 1 a 7. Amostra 5 a 7 com presença de alcanos (17 equivale a 17 átomos de carbono, 18 equivale a 18 átomos de carbono, P é pristano, F é fitano, 19 são 19 átomos de carbono, 20 são 20 átomos de carbono, 21 são 21 átomos de carbono, 22 são 22 átomos de carbono, 23 são 23 átomos de carbono, 24 são 24 átomos de carbono, 26 são 26 átomos de carbono, 27 são 27 átomos de carbono e 29 são 29 átomos de carbono).

#### 7.2.2 Alcanos (m/z 85)

Analisando o cromatograma de íons totais dos alcanos (m/z 85), através da relação dos isoprenóides (i25) em função dos alcanos normais (nC<sub>22</sub>), foi possível observar que os isoprenóides apresentaram uma maior abundância nas amostras 1 até 4 em relação aos n-alcanos, evidenciando uma maior biodegradação na base do afloramento.

Entretanto na amostra 5, ocorreu uma maior abundância dos n-alcanos, e a relação  $i25/nC_{22}$  apresentou um valor menor. Esta amostra está em um ambiente de interduna, não propício para o crescimento das bactérias degradadoras de óleo, por isso, apresentou uma menor biodegradação (Figura 26), como já observado anteriormente no cromatograma de íons toais (TIC) (Figura 25).

Nas amostras 6 e 7 a relação  $i25/nC_{22}$  aumentou, evidenciando uma biodegradação crescente dos n-alcanos nestas amostras (amostra 6 > amostra 7)se comparada com a amostra 5, mas inferior se comparada com as amostras 1 a 4.



Figura 26: Cromatograma dos alcanos (m/z 85) das amostras 1 a 7, e a relação i25 (isoprenóides)/nC<sub>22</sub> (alcanos com 22 átomos de carbono).

#### 7.2.3 Esteranos e Diasteranos (m/z 217)

Analisando os cromatogramas de massa dos esteranos (m/z 217), em relação aos epímeros  $C_{29}\alpha\alpha\alpha 20S$  e  $C_{29}\alpha\alpha\alpha 20R$ , nas amostras 1 e 2, foi observado que a proporção dos  $C_{29}\alpha\alpha\alpha 20R$  na amostra 1 é menor se comparada com a amostra 2. De acordo com Peters & Moldowan (2005), os epímeros derivados biologicamente R são menos resistentes a degradação que os espímeros S, formados geologicamente. A pequena presença dos  $C_{29}\alpha\alpha\alpha 20R$  em relação aos  $C_{29}\alpha\alpha\alpha 20S$  na primeira amostra, indica que o óleo nesta amostra, sofreu maior biodegradação dos esteranos se comparado a amostra 2 (Figura 27).



Figura 27: Cromatograma de massa dos esteranos (m/z 217) das amostras 1 e amostra 2. Mostrando a relação dos epímeros  $C_{29}\alpha\alpha\alpha$  20S com  $C_{29}\alpha\alpha\alpha$ 20R nas respectivas amostras.

No fragmentograma dos esteranos, os diasteranos apresentaram uma menor biodegradação em relação aos epímeros S e R. Os diasteranos são mais resistentes à biodegradação se comparados aos esteranos que são destruídos completamente antes da alteração dos diasteranos (SEIFERT et. al., 1984; REQUEJO & HALPERN, 1989) (Figura 28).



Figura 28: Relação dos esteranos  $29\alpha\alpha\alpha S/29\alpha\alpha\alpha R$  em cor vermelha (M/Z 217) com os diasteranos Diast/ $27\alpha\alpha\alpha R$  em cor preta nas amostras coletadas (1 a 7).

Através da análise dos fragmentogramas observou-se que a biodegradação teve uma tendência de diminuir da base para o topo do afloramento. Na base do afloramento está o contato água/óleo ambiente propício para o crescimento de microorganismos capazes de degradar o óleo.

Através do fragmentograma dos esteranos foi possível notar uma maior biodegradação na amostra 1 (base do afloramento). Já no fragmentograma dos hopanos, a amostra 1 apresenta uma menor biodegradação, se comparada com as outras amostras (Figura 29). Como comentado anteriormente, na base do afloramento está o contato óleo/água e existe uma maior possibilidade de reposição de oxigênio pela infiltração de água meteórica, tornando-se um ambiente com melhores características para o desenvolvimento das bactérias aeróbicas. Estas, possivelmente, tenderam a degradar preferencialmente os esteranos em relação aos hopanos na amostra 1. Entretanto, acima desta amostra, possivelmente, as condições foram mais propícias para as bactérias anaeróbicas que tenderam a degradar preferencialmente os hopanos em relação aos esteranos.



Figura 29: Relação dos esteranos  $29\alpha\alpha\alpha S/29\alpha\alpha\alpha R$  em cor preta (M/Z 217) com os hopanos  $28D/C_{29}$  em cor vermelha (m/z 217) nas amostras coletadas (1 a 7).

#### 7.2.4 <u>Terpanos (m/z 191)</u>

Através dos cromatogramas de massas dos hopanos (m/z 191), foi possível notar a presença dos 25-norhopanos em todas as amostras, indicando que o óleo está severamente biodegradado (Figura 30). À medida que os hopanos são biodegradados, ocorre à formação dos 25-norhopanos, sugerindo que houve a degradação preferencial dos hopanos em relação aos esteranos (PETERS & MOLDOWAN, 2005).

Na amostra 1 (base do afloramento) a ocorrência dos 25-norhopanos foi menor em relação as outras amostras. De acordo com o nível de biodegradação descrito por Wenger et al. (2002 *apud* PETERS & MOLDOWAN, 2005) (Figura 15), esta amostra se enquadra no nível 5 de biodegradação, onde os hopanos foram inicialmente alterados.

Nas amostras 2 até 7 a presença dos 25-norhopanos aumentou em relação a amostra 1. Estas amostras estão no nível 6 de classificação, segundo Wenger et al. (2002 *apud* PETERS & MOLDOWAN, 2005) (Figura 15), onde o óleo foi substancialmente alterado das amostras pelos organismos biodegradadores. Nestas amostras ocorrem uma maior degradação dos hopanos pelas bactérias e a relação 25-norhopano/hopanos apresentou um maior valor se comparada com a amostra 1.



Figura 30: Cromatograma dos hopanos das amostras 1 até 7, e a abundância dos 25-norhopanos através da relação 29D (29 átomos de carbono demetilado)/C<sub>30</sub> (30 átomos de carbono).

Analisando a relação dos 25-norhopanos com os hopanos, através do fragmentograma, observaram-se características semelhantes citadas acima na análise dos cromatogramas de massas dos hopanos (m/z 191) (Figura 30). Na amostra 1 a biodegradação apresentou um baixo valor. A partir da amostra 2 até a 4 a biodegradação aumentou, pois os hopanos foram consumidos e os 25-norhopanos foram formados.

Já na amostra 5, ocorreu uma ligeira queda na intensidade da biodegradação. Esta amostra é caracterizada por ser um ambiente de interduna, local pouco propício para o crescimento de bactérias degradadoras de óleo, como já mencionado anteriormente. Entretanto nas amostras 6 e 7 a biodegradação volta a subir indicando um aumento no consumo de hopanos e formação dos 25-norhopanos (Figura 31).



Figura 31: Relação dos 25-norohopanos  $28D/C_{29}$  (m/z 177) em cor preta com os hopanos  $29D/C_{30}$  em vermelho (m/z 191) nas amostras coletadas (1 a 7).

Analisando o fragmentograma dos terpanos tricíclicos em relação aos hopanos, também foi possível notar que os terpanos tricíclicos apresentaram uma maior resistência à biodegradação, em relação aos pentacíclicos nas amostras coletadas (Figura 32).



Figura 32: Relação dos hopanos  $29D/C_{30}$  em vermelho (m/z 191) com os terpanos tricíclicos  $C_{21}/C_{30}$  em cor preta (m/z 191) nas amostras coletadas (1 a 7), cujo aumento de valores significam aumento na intensidade da biodegradação.

## 8 CONCLUSÕES

A presente dissertação de mestrado conseguiu alcançar os objetivos propostos, no entendimento do controle de distribuição do óleo, quantificando a intensidade da biodegradação do óleo no reservatório e sua relação com as fácies sedimentares preservadas na Formação Pirambóia, na região de Anhembi. Dentre os resultados obtidos destacam-se:

- Através das 7 amostras estudadas na área, observou-se que a biodegradação do óleo teve uma tendência de diminuir da base para o topo. Na base do afloramento está o contato óleo/água que é um ambiente mais propício para o crescimento das bactérias degradadoras de óleo. Já no topo do afloramento ocorrem depósitos de areias eólicas mais distantes deste contato óleo/água, dificultando a degradação do óleo por estes microorganismos. Com isso, foi constatada uma maior biodegradação na base do que no topo do afloramento.
- Na amostra 5, observou-se uma menor biodegradação em relação as outras amostras. Esta amostra é caracterizada por fácies de interduna, que apresenta baixa porosidade e permeabilidade, dificultando a degradação do óleo pelas bactérias.
- Os alcanos normais ou *n*-alcanos ocorreram em baixa proporção nas amostras. Entretanto, na amostra 5, estes compostos apresentaram uma maior abundância, pois esta amostra é caracterizada por ambiente de interduna, local pouco propício para a degradação de óleo pelas bactérias.
- Os esteranos apresentaram maior biodegradação apenas na base do afloramento. Na base do afloramento está o contato óleo/água e maior possibilidade de reposição do oxigênio pela infiltração da água meteórica, tornando-se um ambiente propício para o crescimento das bactérias aeróbicas que tenderam a degradar preferencialmente os esteranos. Já para o topo do afloramento as condições foram mais propícias para as bactérias anaeróbicas, pois é um local mais distante do contato óleo/água. Estas tenderam a degradar preferencialmente os hopanos em relação aos esteranos.

# REFERÊNCIAS

AGENCIA NACIONAL DO PETRÓLEO – ANP. Apresenta informações sobre a ANP. Disponível em: <a href="http://www.anp.gov.br">http://www.anp.gov.br</a>> Acesso em 10 jul. 2009.

ALBERDI, M., MOLDOWAN, J. M., PETERS, K. E. and DAHL, J. E. Stereselective biodegradation of tricyclic terpanes in heavy oils from the Bolivar Coastal Fields, Venezuela. **Organic Geochemistry**, [S.I.], v. 32, 181-191. 2001.

ALEXANDER, M. **Biodegradation and Biorremediation**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 453p, 1999.

ARAUJO, L. M.; YAMAMOTO, J. K.; ROSTIROLLA, S. P., Arenitos Asfálticos na Bacia do Paraná: Estudos das Ocorrências no Alto Estrutural de Anhembi. **Boletim de Geociências da Petrobrás**, Rio de Janeiro, v. 7: p. 47-70, 2006

ARAUJO, L.M.; YAMAMOTO, J.K.; ROSTIROLLA, S.P.. Distribuição espacial e caracterização geológica dos arenitos asfálticos da borda leste da Bacia do Paraná no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Geociências**, São Paulo, 2004 v.34. n. 2.

ARAÚJO, C.C. **Gênese das ocorrências de arenito asfáltico da borda leste da Bacia do Paraná,** 2003. 135 f. Tese (Doutorado em Geociências) -Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

ARAUJO, L. M. et al. The Atypical Permian Petroleum System of the Paraná Basin, Brazil. In: Mello, M. R.; Katz, B. J. (Ed.) **Petroleum System of South Atlantic Margins**. Tulsa: AAPG, 2000 . p. 377-402. (AAPG Memoir 73). ASCON-CABRERA, M. A.; LEBEAULT, J. M. Interfacial area effects of a biphasicaqueous-organic system on kinetic of xenobiotic-degrading microorganisms.. **Apllied Microbiology and Biotechnology**, New York, v..43, p.1136-1141, 1995.

BAIRD, C. Química Ambiental. Ed. Bookman. São Paulo-SP. p. 662, 2002.

BAKER, K. H., HERSON, D. S. Biorremediation. McGraw – Hill Inc., New York (1), 376p, 1994.

BENTO, D. M; BAISCH, P.; MACHADO, M. I.; COSTA, J. A.; MARTINS, V. A Influência da Remediação em ambiente impactado com óleo diesel. **RIO OIL & GAS EXPO AND CONFERENCE,** 2004, Rio de Janeiro. **Anais.**.. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás – IBP, 2004. IBP748\_04.

BOSSERT, I.; BARTHA, R. The fate of petroleum in soil ecosystems. In: ATLAS, R.M. (Ed.), **Petroleum Microbiology** New York: Macmillan Publishing Company, 1984. p. 435–473.

BRIGUETTI J. M. P. Faciologia dos sedimentos da Formação Pirambóia na região
de Rio claro (SP). 124 f. Dissertação (Mestrado em Geologia) - Instituto de
Geociências e Ciências Exatas, Universidade do Estado de São Paulo, Rio Claro, 1994.

CAETANO-CHANG, M.R. **A Formação Pirambóia no centro-leste do Estado de São Paulo**. Rio Claro. 196 p. Tese (Livre Docência) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. 1997.

CAETANO-CHANG, M.R. & WU Fu Tai. Diagênese de arenitos da Formação Pirambóia no Centro-Leste Paulista. **Geociências,** São Paulo, v. 22, p. 33-39, 2003. Número Especial, 2003. CERNIGLIA, C. E.; GIBSON, D. T. Algal oxidation of aromatic hydrocarbons: formation of 1-naphtol from naphthalene by Agmenellum quadruplication strain PR-6. **Biochemical & Biophysical Research Communication**, [S.I.], v.. 88, p. 50-58, 1979.

CERNIGLIA, G. E.; GIBSON, D. T. Metabolism of naphthalene by Cunningbamella elegans. **Applied & Environmental Microbiology**, [S.I.], v.. 34, p. 363-370. 1977.

CONNAN, J. Biodegradation of crude oil in reservoir. In: BROOKS, J. & WELTE, D.H., (eds.), **Advances in petroleum Geochemistry**: London, Academic Press, v.1, p.299-335, 1984.

COONNAN, J., RESTLE, A. and ALBRECHT, P. Biodegradation of crude oil an the Aquitaine Basin. In: **Physics and Chemistry of the Earth** Oxford: Pergamon Press, 1980. v.12, p 1-17,.

CHOSSON, P., LANAU, C., CONNAN, J.and DESSORT, D. Biodegradation of refractory hydrocarbon biomarkers from petroleum under laboratory conditions. **Nature**, [S.I.], v. 351, p. 640-642. 1991.

COOKSON, T. **Bioremediation engineering: design and application**. New York: McGraw Hill Inc., 1995. 525 p.

EGLINTON, G.; CALVIN, M. Scientific American, [S.I.], v. 261, p. 32-43, 1961.

FALL, R. R.; BROWN, J. L.; SHAEFFER, T. L.. Enzyme recruitment allows the biodegradation of recalcitrant branched hydrocarbons by Pseudomonas citronellolis. **Applied & Environmental Microbiology**, [S.I.], v. 38, p 715-722, 1979.

FLOODGATE, G. The of petroleum in marine ecosystems. In: ATLAS, R. M. (Ed.) Petroleum Microbiology. New York: Macmillan. p. 355-398, 1984.

FREITAS-BRAZIL F. A. DE,. Estratigrafia de sequencias e processo diagenético:
exemplo dos arenitos marinho-rasos da Formação Ponta Grossa, noroeste da
Bacia do Paraná. 135f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Geologia, UERJ, Rio de Janeiro, 2004.

GARCIA, M.A. DE. Controle faciológico na satuação e composição do óleo no TAR SANDS da Formação Pirambóia, triássico da Bacia do Paraná, estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Laboratório de Engenharia e Exploração de Petróleo – Universidade Estadual do Norte Fluminense. 2010.

GOOGLE MAPS – Apresenta mapas do globo terrestre. Disponível em: <a href="http://maps.google.com">http://maps.google.com</a> Acesso em: 09 fev. 201

GREENWOOD, P. F. and SUMMONS, R. E. GC-MS detection and significance of crocetane and pentamethylicosane in sediments and crude oils. **Organic Geochemistry**, [S.I.], v. 34, p.1211-22. 2003.

HUNT, J.M. **Petroleum Geochemistry and Geology**. New York: Ed. Freeman, 2 ed. 743 p., 1995.

JONES, J. G.; EDDINGTON, M. A. An ecological survey of hydrocarbon oxidizing microorganisms. **Journal of General Microbiology**, [S.I.], v. 52, p. 381-390., 1968.

KVENVOLDEN, K. A. and SIMONEIT, B. R. T. Hydrothermally derived petroleum: examples from Guaymas Basin, Gulf of California, and Escanaba Trough, Northeast

Pacific Ocean. American Association or Petroleum Geologists Bulletin, Tulsa, v. 74, p. 223-37. 1990.

KENNISH, M.J. **Practical handbook of estuarine and marine pollution**. Boca Raton: CRC Press. 1996. 524 p

KENNISH, M.J. **Pollution impacts on marine biotic communities**. CRC Press LLC, Boca Raton, FL. p. 310., 1997.

KILLOPS, S.D; KILLOPS, V.J.. An Introduction to Organic Geochemistry New York: Longman, 1994. 265 p

LAFARGUE, E., THIEZLE, P. Effect of water washing on light ends compositional heterogeneity. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 24: p. 1114- 1150., 1994.

MACGILLIVRAY, A. R.; SHIARIS, M. P. Biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons by yeasts isolated from coastal sediments. **Applied & Environmental Microbiology,** Washington, v. 59, p. 1613-1668., 1993.

MILANI, E.J., MELO, J.H.G., SOUZA, P.A., FERNANDES, L.A., FRANÇA, A.B. Bacia do Paraná. *IN.* **Boletim de Geociências da Petobras**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 2, 2007.

MILANI, E.J. Evolução tectono-estratigráfica da bacia do Paraná e seu
relacionamento com a geodinâmica fanerozóica da Gondwana sul-ocidental. 1997.
2 v. Tese (Doutorado em Geologia) - Instituto de Geociências, Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

MILANI, E.J., FRANÇA, A.B., SCHNEIDER, R.B. Bacia do Paraná. **Boletim de Geociências da PETROBRÁS**, Rio de Janeiro, v. 8, p. 69–82, 1994.

MILANI, E.J., KINOSHITA, E.M., ARAÚJO, L.M., Cunha, P.R.C. Bacia do Paraná: possibilidades petrolíferas na calha central. **Boletim de Geociências da PETROBRÁS**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 21–34, 1990.

OBERMAJER, M., FOWLER, M. G., SNOWDON L. R., GAGNON, L. A geochemical characterization and a biomarker re-appraisal of the oil families from southwestern. Ontario, Canada. **Bulletin of Canadian petroleum geology**. [S.I.], v. 46, n. 3, p. 350-378. 1998.

OUDOT, J.; FUSEY, P.; ABDELOUAHID, D. E.; HALOUI, S. ROQUEBERT, M. F. Capacités degradativos des bactéries et de champignons isolés d'un sol contamine par un fuel. **Canadian Journal of Microbiology**, [S.I.], v. 33, p. 232-243., 1987**.parei aqui** 

PETERS, K.E. & MOLDOWAN, J.M. **The biomarker guide**. .2.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1993. 262p

PETERS, K.E. & MOLDOWAN, J.M. **The biomarker guide**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. 1155 p

PHILP, R.P., Fossil Fuel Biomarkers-Applications and Spectra, New York, Elsevier 1985.

QUADROS, L. P. Avaliação geoquímica da Bacia do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GEOLOGIA, 32, 1982, Salvador. **Anais**... Salvador: [s.n.], 1982. v.5, p. 2349 - 2352. REQUEJO, A. G. and HALPERN, H. I. An unusual hopane biodegradation sequence in tar sands from the point Arena (Monterey) Formation. **Nature**, [S.I.], 343, p. 670-673. 1989.

RODRIGUES, R. Indicadores geoquímicos moleculares (biomarcadores) aplicados à exploração de petróleo. In: GEOQUÍMICA do petróleo, Rio de Janeiro: CENPES-Petrobras. 1984. p. 157-190.

ROSATO, Y. B. **Biodegradação do Petróleo**. In: MICROBIOLOGIA Ambiental. ed. Jaguariúna: EMBRAPA. p. 307-334.

ROSENBERG, E., RON, E. Z. Bioremediation of petroleum contamination,. In: CRAWFORD, R. L.; CRAWFOR, D. G. (Ed), **Bioremediation: principles and applications.** Cambrigde: Cambrigde University Press, 1996. p. 100-124.

SHAKIR, S., HEMPTINNE, J. C. DE. The effect of difuusion on the modeling of the water-washing phenomwnon. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, Amsterdam, v. 58, n. 3-4, p. 403-412.

SEIFERT, W. K., MOLDOWAN, J. M.; DEMAISON, G. J. Source correlation of biodegraded oils. **Organic Geochemistry**, Amsterdam, v. 6, p. 633-43, 1984.

SOARES, P.C. Divisão estratigráfica do Mesozóico no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Geociências**, Curitiba, v. 5, p. 229-251, 1975.

SOFER, Z., REGAN, D. R., MLLER, D. S. Sterane isomerization ratios of oils as maturity indicators and their use as an exploration tool, Neuquen Basin, Argentina. In: CONGRESO GEOLÓGICO ARGENTINO, 12. *Actas 1*, [S.I], 1993. p. 407-411..

SORKHOH, N. A.; IBRAHIM, A. S; GHANNDOUM, M. A.; RADWAN, S. S. High temperature hydrocarbon degradation by Bacillus stearothermophilus from oil-polluted Kuwait desert. **Applied Microbiology & Biotechnology**, [S.I.], v.39, p. 123-126. 1993.

THOMAZ FILHO; A.;MIZUSAKI, A.M.P.; ANTONIOLI, L., Magmatism and petroleum exploration in the Brazilian Paleozoic Basins. **Marine and Petroleum Geology** Amsterdam, v. 25, p.143-151, 2008.

THOMAZ FILHO, A. Ocorrência de Arenito Betuminoso em Anhembi (SP). Cubagem e Condicionamento geológico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GEOLOGIA, 32., Salvador. **Anais**... Salvador, 1982. v.5, p. 2344-2346.

TISSOT, B.; WELTE, D.H. Petroleum Formation and Ocurrence – A new approach to oil and gas exploration. 2. ed., Heidelberg: Springer, 1984. 699 p.

VERSTRAETE. W.; VANLOOCKE, R.; DEBORGER; VERLINDE. A. **Modelling of the breakdown and the mobilization of hydrocarbons in unsatured soil layers**. In: SHARPLEY, JM; KAPLAN, A.M. (Ed.). INTERNATIONAL BIODEGRADATION SYMPOSIUM, 3., 1976. **Proceedings**... London: Applied Science Publishers. 1976. p. 99-112.

ZALÁN, P. V.; WOLF, S.; CONCEIÇÃO, J. C. J.; MARQUES, A., ASTOLFI, M. A. M.; VIEIRA, I. S.; APPI, V. T. & ZANOTTO. Tectonics and sedimentation of the Paraná Basin. In: GONDWANA SYMPOSIUM, 7., 1991, São Paulo. *Proceedings*...São Paulo.: Universidad de São Paulo. p. 83-117.

ZALÁN, P. V.; WOLF, S.; CONCEIÇÃO, J. C. J.; MARQUES, A., ASTOLFI, M. A. M.; VIEIRA, I. S.; APPI, V. T. & ZANOTTO. Bacia do Paraná. In: ORIGEM e Evolução de Bacias Sedimentares, p. 135-168. 1990.

ZALÁN, P. V., WOLFF, S., CONCEIÇÃO, J. C. J., VIEIRA, I. S., ASTOLFI, M. A. M., APPI, V. T., ZANOTTO, O. A. Tectônica e sedimentação da bacia do Paraná. In: Simpósio Sul-Brasileiro de Geologia, **3**., Curitiba, PR, 1987. **Atas...** Curitiba, Sociedade Brasileira de Geologia, v.1, p. 441–477.,1987.

WALKER, J.D.; COLWELL, R. R.; VAITUZIS, Z.; MEYER, S. A. **Petroleumdegrading** achlorophyllous alga Prototbeca zopfi. Nature, London, v. 254, p. 423-434.,1975.

WAPLES, D. W., MACHIHARA, T. **Biomarkers for Geologist**: a Pratical guide to the application of Steranes and Triterpanes in petroleum geology. Tulsa: American Association of Petroleum Geologists, 1991. 85 p

WENGER, L. M., DAVIS, C. L. and AISAKSEN, G. H. Multiple controls on petroleum biodegradation and impact on oil quality. **SPE Reservoir Evaluation and Engineering**, [S.I.], v. 5, p. 373-83. 2002.