

SEPARAÇÃO DE HPAN POR SPE COM GEL DE SILICA E GEL DE SILICA/C18: DIFERENÇAS E QUANTIFICAÇÃO

Lucia Maria Cunha Rebouças¹, Fred Augusto Ribeiro Nogueira¹, Adilson Rodrigues Sabino¹, Orlando Roberto Pimentel Araujo¹, Antonio Euzébio G. Sant Ana¹

¹Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Br 101, Norte Km 14, Tabuleiro dos Martins, Maceió, AL, 57072-970. lmcr@qui.ufal.br

Resumo

Visando uma melhor separação dos compostos com núcleo indólicos e quinolínicos presentes em petróleo, e pertencentes à classe dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Nitrogenados (HPAN), os padrões: indol (I); quinolina (Q); isoquinolina (IQ); 2-fenil-indol (FI); 7,8-benzoquinolina (BQ); acridina (AC); fenantridina (PH); carbazol (CA); 9-etilcarbazol (EC); 9-fenilcarbazol (FC) foram analisados por Extração em Fase Sólida (SPE) com a fase estacionária, gel de Sílica (Si). Para efeito de comparação da eficiência da metodologia SPE em gel de Si, os padrões foram também analisados por SPE com a fase estacionária sílica/C18/NEC (C₁₈). As colunas C₁₈ e Si foram eluídas com hexano (F1), diclorometano (F2) e diclorometano com 1% de ácido fórmico (F2a). As frações F1, F2 e F2a foram analisadas por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) e coluna capilar DB-5, na programação: 40°C (2min), 10°C/min até 200 °C, 4°C/min, 310°C, 20 min. A fase estacionária C₁₈ apresenta na fração eluída com diclorometano os derivados quinolínicos e indólicos (BQ, AC, PH, CA, FI). Os compostos quinolínicos com exceção do BQ não eluem com DCM (fração F2), quando a fase estacionária usada foi Si. Na fase Si só os compostos nitrogenados neutros com núcleo indólico (I, CA, EC, FI e FC) estão presentes na fração com DCM. Permanecendo os compostos com núcleo quinolínicos na coluna. Pelos resultados aqui apresentados podemos sugerir a fase estacionária em gel de sílica muito boa para os estudos dos carbazóis e benzocarbazóis em petróleos, uma vez que os compostos com núcleo quinolínicos não eluem na mesma fração. Nas duas fases estacionárias Si e C₁₈ os Hidrocarbonetos Saturados (HS) e Hidrocarbonetos Aromáticos (HÁ) são observados na fração eluída com hexano. Por tanto, as duas fases são eficientes para a separação destes compostos do petróleo.

palavra-chave: HPAN, SPE, Petróleo

1. INTRODUÇÃO

O petróleo, quando migra, é uma mistura óleo/água ou óleo/água/gás, e caminha por flutuação acima e para longe da rocha geradora até encontrar uma trapa para se alojar (Peters e Moldowan, 2005). A eficiência na determinação da distância de migração do óleo, da rocha-mãe ao reservatório pode ser uma ferramenta importante na identificação de novos e economicamente viável poços de petróleo. Os compostos nitrogenados apresentam potencial no estudo da interação das fases sólidas orgânico/mineral no sistema por onde migra o petróleo (Li e col., 1999). A presença de compostos nitrogenados em óleos brutos varia de 0.1 a 2% (Peters e Moldowan, 2005). As estruturas dos compostos nitrogenados mais encontrados em petróleos e sedimentos incluindo os núcleos indol e quinolino. Com o núcleo indol temos os carbazóis e os benzocarbazóis (benzo[a]-, benzo[b]- e benzo[c]-carbazol) os quais tem sido estudados extensivamente em sedimentos e petróleos (Larter e col. 1996; Trindade & Brassell, 1992), diesel e em derivados de petróleo (Huang e col, 2003). Os derivados quinolínicos e benzoquinolinas estão presentes como derivados alquilados e representam os compostos aromáticos nitrogenados básicos mais estudados nos óleos e nos sedimentos (Bennett e Love, 2000; Li e Larter, 2001), e abrangem em media, 30% do total do conteúdo de compostos nitrogenados em petróleos. Os compostos com núcleos quinolínicos e indólicos pertencem à classe dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrogenados (HPAN), e são sistematicamente fracionados entre as camadas de água, rochas e matéria orgânica, durante a migração do petróleo, de maneira que suas concentrações absolutas, em diferentes óleos, podem ser usadas para acompanhar as mudanças na direção do óleo. As diferenças de concentração dos compostos HPAN constituem uma ferramenta importante na identificação de novos poços de petróleo. Visando um metodologia rápida e econômica, este trabalho apresenta as diferenças na separação e quantificação dos derivados: indol; quinolina; isoquinolina; 2-fenil-indol; 7,8-benzoquinolina; acridina; fenantridina; carbazol; 9-etilcarbazol; 9-fenilcarbazol, nas fases estacionárias gel de sílica (Si) e gel de sílica/C₁₈.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Os **HPAN** com um único átomo de nitrogênio endocíclico estão divididos em duas classes os piridínicos e os pirrólicos. Os compostos do tipo piridínicos estão em torno de 30% do conteúdo total da fração polar que contém os nitrogenados. Nesta classe incluem os compostos alquilquinolínicos (C_2 -DMQ, C_3 -TMQ e C_4 -TeMQ) e os alquilbenzoquinolínicos (Li e Larter, 2001). A outra classe, pirrólicos, incluem o carbazol, o qual pode ser alquilado e condensado com um anel benzênico para formar duas principais classes de derivados muito comum em petróleos: os alquilcarbazóis e benzocarbazóis (Huang e col., 2003; Li e col., 1999). Estes compostos nitrogenados carbazóis e benzocarbazóis são usados como indicadores de distância de migração dos óleos da rocha-reservatório (Larter e col., 1996; Li e Larter, 2001). Os compostos metliquinolínicos apresentam maior basicidade do que os correspondentes quinolínicos não metilados. No entanto quando os grupos metilas estão nas posições 2 e 8 a basicidade é reduzida significativamente. Como consequência destas diferenças de basicidade estes compostos são sensíveis as interações ácido/base, e às interações com as rochas durante as migrações primárias e secundárias do petróleo (Li e Larter, 2000; Bennett e col., 2004). Entre os compostos nitrogenados os alquilcarbazóis e benzocarbazóis são usados na geoquímica do petróleo como indicadores de migração secundária do óleo bruto.

Os carbazóis representam uma importante classe de compostos classificados como alcalóides indólicos, e estão presentes em plantas, em ambientes marinhos, em algas, em esponjas, em bactérias, etc. Do ponto de vista estrutural, o carbazol é um composto tricíclico aromático nitrogenado (Fig. 1), podendo ser alquilado formando os alquilcarbazóis. A fusão do anel benzênico ao núcleo carbazol forma a classe dos benzocarbazóis. Estes compostos carbazóis, benzocarbazóis e seus derivados alquilados (Fig. 1), estão presentes em quantidades significativas em petróleos, sedimentos, diesel e em derivados de petróleo. Quando os grupos alquilas estão adjacentes ao grupo funcional, **N-H** do núcleo carbazol, formam os isômeros considerados protegidos, os quais são abundantes em petróleos. Por outro lado quando estes mesmos grupos estão em posições distantes do grupo funcional, eles são considerados desprotegidos e ocorrem com mais frequências em rochas. Durante a migração do petróleo a abundância relativa dos isômeros alquilcarbazóis muda devido à interação dos carbazóis com a superfície mineral das rochas.

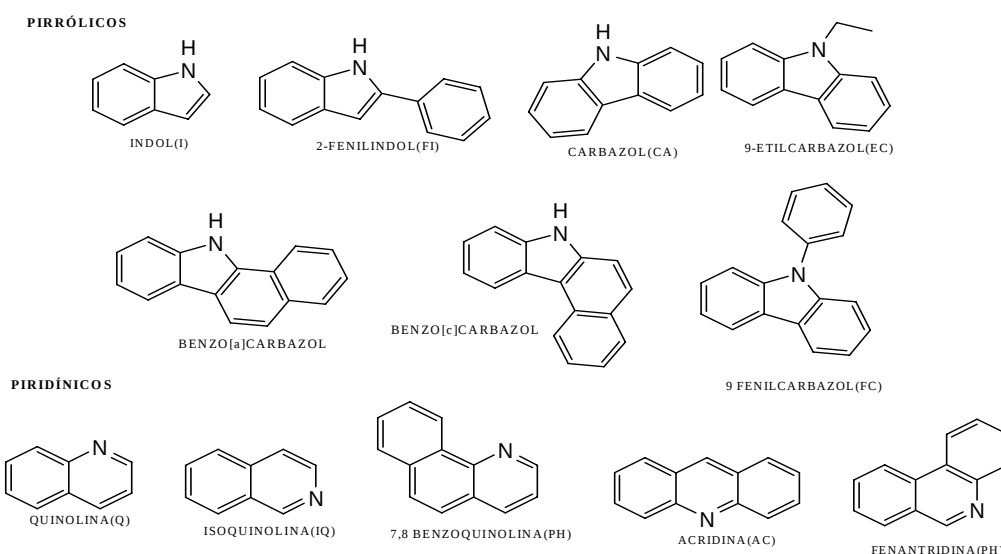


Figura 1. Estruturas dos compostos nitrogenados presentes em petróleos.

Vários métodos de separação dos HPAN estão citados na literatura (Bastow e col. 2003) entre eles sílica e/ou alumina em cromatografia líquida. Recentemente vem sendo usada a técnica SPE (Separação por fase sólida) principalmente em sílica com octadecano (Si/C18/NEC) (Benett e col.). Visando uma melhor separação dos compostos nitrogenados com núcleo indólicos e quinolínicos presentes em petróleo e pertencentes à classe dos HPAN, os padrões: indol (I); quinolína (Q); isoquinolína (IQ); 2-fenil-indol (FI); 7,8-benzoquinolína (BQ); acridina (AC); fenantridina (PH); carbazol (CA); 9-etilcarbazol (EC); 9-fenilcarbazol (FC) foram analisados por Extração em Fase Sólida (SPE) com a fase estacionária, Sílica (Si). Para efeito de eficiência da metodologia SPE em Si, os padrões foram também analisados por SPE com fase estacionária sílica/C18/NEC (C18) (Benett e col. 1996).

3. METODOLOGIA

-Amostras: Os padrões indol (I); quinolina (Q); isoquinolina (IQ); 2-fenil-indol (FI); 7,8-benzoquinolina (BQ); acridina (AC); fenantridina (PH); carbazol (CA); 9-etilcarbazol (EC); 9-fenilcarbazol (FC) foram adquiridos da Aldrich-Sigma com grau de pureza acima de 95%. Uma solução, em diclorometano, na concentração de 1mg/1mL foi preparada para cada composto. Da solução de 1mg/mL foi removido 30uL de cada padrão e misturado, formando a mistura HPAN (300uL). A mistura HPAN foi analisada por (SPE).

-Separação dos Compostos pos SPE: A mistura de padrões HPAN (100uL), foi transferida para duas colunas SPE (500mg/3mL), com fases estacionárias Sílica (Si) e Sílica impregnada com octadecano (C18). Como nem todos os grupos OH da sílica estavam com C₁₈, esta fase estacionaria recebe a denominação (NEC). As colunas Si e C18 foram previamente eluída com diclorometano (DCM - 6mL) e ativadas em estufa por uma noite. Antes da adição da amostra HPAN as colunas foram eluídas com 3mL de hexano. Após adição das amostras as colunas foram eluídas com hexano (F₁) e 5 mL de diclorometano (F₂) respectivamente. Em uma outra coluna com gel de sílica (500mg/3mL), preparada como citado acima, foi adicionado 100 uL da mistura HPAN e a coluna eluída com hexano (F1) e diclorometano 1% DCM (F2a). Para quantificação dos compostos HPAN, antes da análise por CG foi adicionado na fração F2, 1µL do padrão 9-fenilcarbazol.

-Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM): As análises por CG com detector de Ionização de Chama (FID) foram realizadas em aparelhos Shimatzu, GC 2010. O CG operou com coluna capilar apolar DB-5 (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm de espessura do filme), Hidrogênio como gás de arraste (1mL/min) na pressão inicial de 50Kpa e divisão de amostra 30mL/min. A programação de temperaturas do CG: 40°C (2min), 10°C/min até 200 °C, 4°C/min, 310°C, 20 min (carbazóis). A identificação foi feita pela comparação dos tempos de retenção dos padrões injetados individualmente.

4. RESULTADOS

Pela comparação do tempo de retenção dos padrões HPAN, injetados isoladamente, foi possível identificar nas frações eluídas com hexano (F1C18R) e diclorometano (C18F2RC), que os padrões eluem diferentemente nas duas fases estudadas. No cromatograma da Figura 2, os compostos etilcarbazol (EC) e fenilcarbazol (FC) eluem na sua totalidade com hexano fração PANF1C18R. Por outro lado o fenil-indol (FI) aparece tanto na fração eluída com hexano (PANF1C18R) entorno de 1,32 % (Tabela 1), como na fração eluída com diclorometano (PANC18F2RC), porém em maior concentração (14,63%) na F2 (Fig. 2; Tabela 1). Os outros padrões como: indol (I), benzoquinolino (BQ), acridina (AC), fenantridina (PH), e carbazol (CA) nesta mesma fase estacionária (Si/C18), eluem todos na fração eluída com DCM (PANC18F2RC), como era esperado (Fig. 2). De maneira geral na fase Si/C18/NEC não observamos diferença entre os compostos com núcleos neutros (carbazóis e derivados) ou básicos (quinolinos e derivados), ambos eluem na fração mais polar F2.

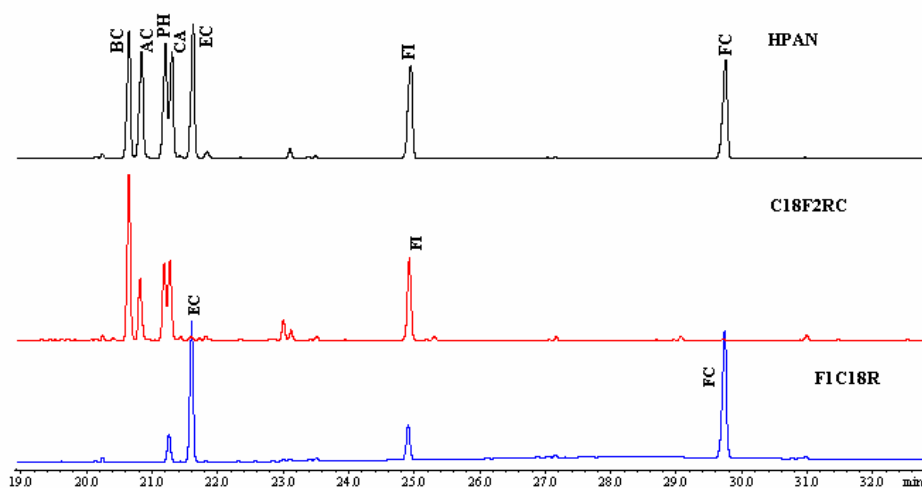


Figura 2. Comparação dos cromatogramas das frações F1 (PANF1C18R) e F2 (PANC18F2RC) obtidas da coluna SPE em C₁₈. HPAN mistura de padrões. BQ (Benzoquinolina), AC (Acridina), PH (Fenantridina), CA (Carbazol), EC (9-Etilcarbazol), FI (2-Fenilindol) e FC (9-Fenilcarbazol).

Comparando a fase C₁₈ com a fase gel de sílica (Si) observamos diferenças significativas na eluição dos compostos, neutros (núcleo indólico) e básicos (núcleo quinolinico), na fração eluída com DCM (Fig. 3). Na fração SiF2R (Fig. 3) só o composto de caráter básico 7,8-benzoquinolina (BQ) foi detectado em quantidade

relativa alta, entorno de 20,26 % (Tabela 1). Nesta fração, SiF2R, temos uma predominância dos compostos neutros, com núcleo indólico, como carbazol (CA), etilcarbazol (EC), fenil-indol (FI) e fenilcarbazol (FC) (Fig. 3). Os compostos com caráter básicos, como acridina (AC) e fenantridina (PH), que eluam na fase C₁₈, conforme cromatograma da fração C18F2RC (Fig. 3) não foram detectados na fração SiF2R (Fig. 3). Outra diferença observada entre as duas fases, ocorreu na fração eluída com hexano (F1). Na fase estacionária Si temos traços do composto FC na fração (SiF1R) (Fig. 3), infelizmente nesta fração tivemos contaminação de outros compostos, possivelmente n-alcenos com tempo de retenção entre 12,5 e 22,5 min. A presença de 1% de ácido fórmico (a) com o DCM diminuiu a eluição dos padrões HPAN analisado, nas duas fases Si e C₁₈. Maior quantidade dos padrões HPAN estudados isolados pelas duas fases ocorreu com a fase móvel DCM (Tabela 1).

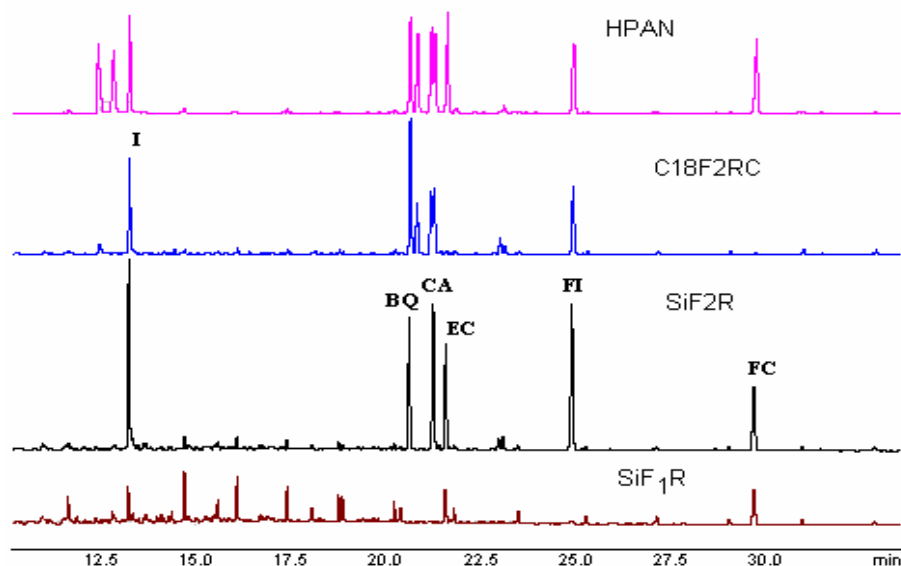


Figura 3. Comparação entre os cromatogramas das frações eluídas com diclorometano nas fases estacionárias: Sílica (Si) (frações SiF2R e SiF1R) e C₁₈ (fração C18F2RC). HPAN mistura dos padrões injetados no CG, antes das análises por SPE. I (Indol), BQ (Benzoquinolina), AC (Acridina), PH (Fenantridina), CA (Carbazol), EC (9-Etilcarbazol), FI (2-Fenil-indol) e FC (9-Fenilcarbazol).

O fato do composto 7,8-benzoquinolina (BQ), ter sido o único composto de caráter básico a eluir na fase estacionária gel de sílica (Si) em quantidade relativa alta, entorno de 20,26 % (Tabela 1), pode ser interpretado levando-se em consideração a basicidade dos compostos. Os compostos com núcleo indólico (I, CA, EC, FI e FC), têm menor interação com a fase estacionária de sílica (Si), por serem compostos nitrogenados neutros. O par de elétrons do nitrogênio está conjugado com os elétrons do anel. Por outro lado nos compostos quinolínicos, este par de elétrons encontra-se fora da conjugação com os elétrons do anel, tornando-os mais livres e conseqüentemente básicos. Estes compostos básicos passam assim a ter mais interação com a fase estacionária gel de sílica (Si). O composto BQ apesar de ser caráter básico foge a esta interação com a fase estacionária, possivelmente devido a sua estrutura, onde os elétrons livres do nitrogênio estão em parte protegidos pelo átomo de hidrogênio do anel C (Fig.4). Esta mesma proteção é mencionada por outros autores na comparação dos compostos benzocarbazóis [a] e [c] (Larter, 1996). Os dados da literatura sugerem o benzo[a]carbazol como um composto protegido, e o benzo[c]carbazol como desprotegido (Fig. 4). A remoção seletiva de benzo[a]carbazol protegido, em relação a benzo[c]carbazol desprotegido, ou seja, Razão A/C = Benzo[a]carbazol / Benzo[a]carbazol + Benzo[c]carbazol, é um parâmetro indicador de migração, com excelente correlação da distância da migração do petróleo da fonte ao reservatório (Haung et al, 2003).

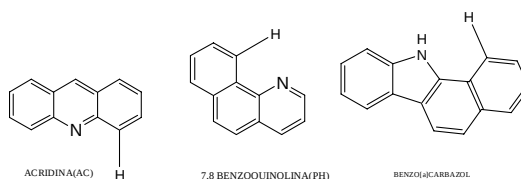


Figura 4. Estrutura da 7,8-Benzoquinolina e benzo[a]carbazol comparada com Acridina

O gráfico em barras (Fig. 5) mostra que na fase C₁₈ (C18F2RC) os compostos com núcleo quinolínicos (BQ, AC e PH) eluem junto com os compostos de núcleo indólico (CA, EC, FI). Fenilcarbazol (FC) em geral não é encontrado em amostras do petróleo sendo usado com padrão interno e/ou externo para quantificação dos carbazóis e benzocarbazóis, e o mesmo elue na fração com hexano (F1) nesta fase C₁₈. Por outro lado na análise por SPE em gel de sílica (SiF2R) basicamente só os compostos com núcleo indólicos foram detectados na fração eluída com DCM (Fig. 54). Considerando os resultados obtidos neste trabalho, para estas duas fases, podemos sugerir que a fase estacionária em gel de sílica (Si) seria muito boa, se estivéssemos interessados somente nos compostos com núcleo indólicos, como carbazóis e benzocarbazóis. Uma fase móvel encontra-se em estudo para separar da fase Si os compostos básicos com núcleo quinolínicos (AC e PH).

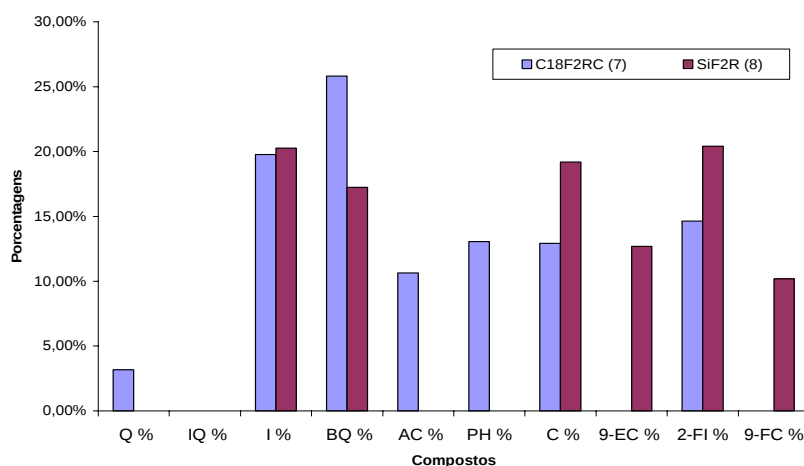


Figura 5: Comparação das fases Si/C₁₈ e gel de sílica (C₁₈) apresentando o percentual de cada composto.

O petróleo não é constituído somente de Hidrocarbonetos saturados (HS) e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA), mas de outros constituintes em menor percentual, com átomos de nitrogênio, oxigênio e enxofre (NOS) (Cardoso, 2005). Considerando que os HS e HPA estão em maior percentagem no petróleo comparando com os compostos nitrogenados, resolvemos comparar também nestas duas fases estacionárias Si e C₁₈, o comportamento dos compostos HS e HPA. O cromatograma (Fig. 6) mostra que a mistura de padrões naftaleno (N), dodecano (C12), 2-metilnaftaleno (2MN), bifenil (BI), fenantreno (F) elue na fração F1 eluída com hexano (PHASF1Si e PHASF1C18) nas duas fases (Fig. 5). Ambas as fases apresentam boa separação para os padrões HS e HPA testados, e os mesmos não interferem na separação dos compostos nitrogenados, uma vez que eles por eluem na fração diferente dos compostos HPAN.

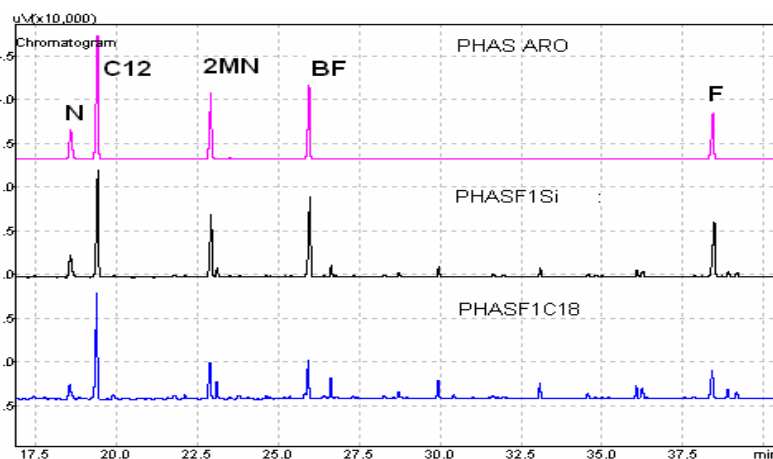


Figura 6. Comparação entre os cromatogramas das frações F1 eluídas com hexano nas fases estacionárias: Sílica (Si) (PANF1Si) e Sílica/C₁₈ (C₁₈) (PANSF1C18). PHAS ARO mistura de padrões injetados no CG antes das análises por SPE.

Tabela 1 - Percentagem de compostos que eluíram com hexano F1 e diclorometano F2 nas fases estacionárias gel de sílica (Si) e gel de sílica/C₁₈/NEC (C₁₈). (a) fase móvel DCM + ácido fórmico (AC); (2) e (6) DCM + AC; (7) e (8) fase móvel DCM.

AMOSTRAS	Q (%)	IQ (%)	I (%)	BQ (%)	AC (%)	PH (%)	CA (%)	EC (%)	FI (%)	FC (%)
C18F2RC (7)	3,17%	0,00%	19,76%	25,81%	10,65%	13,05%	12,93%	0,00%	14,63%	0,00%
SiF2R (8)	0,00%	0,00%	20,26%	17,24%	0,00%	0,00%	19,19%	12,70%	20,42%	10,19%
F2(a)SiR (6)	0,00%	0,00%	5,49%	6,58%	0,00%	0,00%	6,56%	4,60%	*76,77%	0,00%
F2(a)C18R (2)	2,59%	0,00%	3,80%	11,08%	5,74%	8,54%	7,67%	0,00%	*60,58%	0,00%

5. CONCLUSÃO

-A fase estacionária gel de sílica com C₁₈ (Si/C₁₈/NEC) apresenta boa separação para os derivados quinolínicos e indólicos (I, BQ, AC, PH, CA, FI), estes compostos eluem em uma mesma fração com diclorometano.

-A fase estacionária gel de sílica (Si) apresenta boa separação para os compostos com núcleo indólico (CA, EC, FI e FC). Nesta fase só os compostos nitrogenados neutros com núcleo indólico são eluídos com DCM. Sendo assim uma fase estacionária muito boa para os estudos dos carbazois e benzocarbazois, uma vez que os compostos com núcleo quinolínicos não eluem na mesma fração.

-Nas duas fases estacionárias (Si) e (Si/C₁₈/NEC) os Hidrocarbonetos Saturados (HS) e Hidrocarbonetos Aromáticos (HÁ) são observados na fração eluída com hexano. Por tanto, as duas fases são eficientes para a separação destes compostos do petróleo.

6. AGRADECIMENTOS

A CNPq/CTPETRO, FAPEAL, CNPq

7. REFERÊNCIAS

- BENNETT, B.; LOVE, G.D. Release of organic nitrogen compounds from kerogen via catalytic hydropyrolysis. *Organic Transactions*.2000
- BENNETT, B.; LAGER, A.; RUSSELL, C.A.; LOVE, G.D.; LARTER, S.R. Hydropyrolysis of algae, bacteria, archaea and lake sediments; insights into the origin of nitrogen compounds in petroleum. *Organic Geochemistry*. V. 35. p. 1427-1439. 2004.
- HUANG, H.; BOWLER, B. F. J.; ZHANG, Z.; OLDENBURG, T. B. P.; LARTER, S. R. Influence of biodegradation on carbazole and benzocarbazole distributions in oil columns from the Liohe basin, NE China. *Organic Geochemistry* V. 34, p. 951-969. 2003.
- LARTER, S.R.; BOWLER, B.F.J.; LI, M.;CHEN, M.; BRINCAT, D.; BENNETT, B.; NOKE, K.; DONOHOE, P.; SIMMONS, D.; KOHNEN, M.; ALLAN, J.; TELNAES, N.; HORSTAD,, I. Molecular indicators of secondary oil migration distances. *Nature* V.383, p. 593-597. 1996.
- LI, M; FOWLER, M.G; O, BERMAGER, M; STASIUK, L. D; SNOWDON, L.R. Geochemical characterization of middle Devonian oils in NW Alberta, Canadá: possible source and maturity effect on pyrrolic nitrogen compounds. *Organic Geochemistry*. V.30 p. 1039-1057. 1999.
- LI, M; LARTER, S.R. Potencial bias in the isolation of pyridinic nitrogen fractions from crude oils and rock extracts using acid extraction and liquid chromatography. *Organic Geochemistry*. V. 32. p. 1025-1030. 2001.
- PETERS, K.E; MOLDOWAN, J.M; WALTERS, C.C. Biomarkers and isotopes in the environment and human history. *The Biomarker Guide*. Cambridge, vol. 1 e 2, 2th ed. 2005.