



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOQUÍMICA:
PETRÓLEO E MEIO AMBIENTE**

ANA CLARA BOMFIM RIBEIRO

**DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES SATURADOS EM EXTRATOS DE
ROCHAS GERADORAS E PETRÓLEOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA
ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS DO TIPO TRIPLO
QUADRUPOLO (CG-EM/EM)**

**Salvador
2019**

ANA CLARA BOMFIM RIBEIRO

**DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES SATURADOS EM
EXTRATOS DE ROCHAS GERADORAS E PETRÓLEOS POR
CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE
MASSAS DO TIPO TRIPLO QUADRUPOLO (CG-EM/EM)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente (Pospetro) da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Geoquímica do Petróleo e Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Soares de Souza

Salvador
2019

FOLHA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de vivenciar essa experiência do mestrado com bastante desafios e obstáculos, pois se não fossem por eles não teria fortalecida e preparada para o que de fato é a vida. E os mais próximos sabem que esse trabalho concluído é sinônimo de superação.

Agradeço ao meu Orientador, Prof. Sérgio Luis Costa Ferreira, um profissional respeitável, que resolve qualquer problema em questões de segundos, tornando qualquer desespero em calma. A minha Coorientadora, Profa. Eliane Soares de Souza por aceitar essa missão, mesmo à distância, e contribuir com todo seu conhecimento e orientação.

Ao Prof. José Roberto Cerqueira por todas as sugestões do trabalho e pela disposição em sempre ajudar com o seu conhecimento. A Profa. Ieda Spacino Scarminio por contribuir e enriquecer esse trabalho.

Agradecimentos mais do que especiais as professoras: Ana Cecília Rizzatti e Maria Elisabete Machado. Ana por ter estendido, lá atrás, sua mão em meu auxílio e que nem imagina a quão grata sou por isso. E Beth por ter sido uma peça fundamental para que eu não desistisse no meio do caminho. Se há alguém que ama a pesquisa e faz por amor, é ela.

Agradeço também a estudante de Iniciação Científica Geisa por todo apoio laboratorial. Agradeço a todo corpo técnico do Lepetro, em especial, Lili e Carol, pelo apoio durante o afastamento de saúde e a Regina pela companhia durante as análises e por ter me acompanhado durante todo desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço aos meus amigos do Lepetro (Marcão, Mari, Minnie, Cíntia, Deco, Lucas, Ana Paula) pelo apoio nos momentos mais difíceis, pelas discussões científicas (o que falar de Marcão 5h comigo via Skype discutindo esses resultados?!), pela grande amizade e carinho. Vocês se tornaram irmãos!

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Obrigada a todos!

RESUMO

O presente trabalho é derivado do projeto intitulado “Projeto Caracterização Molecular Avançada” pertencente ao Centro de Excelência em Geoquímica do Petróleo do Instituto de Geociências da Universidade Federal da Bahia (UFBA), que teve apoio financeiro da a Royal Dutch Shell através do “Compromisso com Investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento” com a ANP, no âmbito do Programa GEOQPETROL. Os biomarcadores saturados do petróleo são compostos orgânicos de elevada complexidade encontrados em baixas concentrações em praticamente todos os tipos de petróleos e rochas geradoras. Esses biomarcadores têm sido amplamente investigados a nível molecular e usados em razões diagnósticas geoquímicas para obter informações sobre as condições físico-químicas do paleoambiente deposicional da rocha geradora, sobre a origem e *input* da matéria orgânica, o grau de maturidade térmica e o nível de biodegradação dos óleos. Por meio do uso da técnica da cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) é possível a identificação desses compostos, entretanto, devido à complexidade das amostras e a elevada similaridade intrínseca a esses tipos de compostos, faz-se necessário a utilização de equipamentos que permitam um maior nível de sensibilidade, como exemplo do cromatógrafo a gás acoplado a espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo (CG-EM/EM). As análises ocorreram por meio da técnica CG-EM/EM no modo *Multiple Reaction Monitoring* (MRM) a fim de otimizar um método de análise para os biomarcadores saturados das famílias dos triterpanos e esteranos. Além da otimização, o trabalho teve como objetivo comparar qualitativamente e através de ferramentas estatísticas dois modos de monitoramento (SIM e MRM) para avaliar as influências dos monitoramentos sobre as razões diagnósticas empregadas nas avaliações de paleoambientes deposicionais da rocha geradora. Foram utilizadas 5 amostras de petróleo bruto e 8 de rochas geradoras provenientes de bacias sedimentares brasileiras com diferentes características. A obtenção da matéria orgânica solúvel das rochas foi realizada por extração acelerada de solvente (ASE), posteriormente, as amostras foram fracionadas para obtenção da fração saturada pela cromatografia em coluna. Os resultados das análises cromatográficas, no modo SIM e MRM, mostraram que houve diferenças entre os dois modos, com relação a resolução de determinados compostos, assim como na tendência de aumento ou diminuição de razões diagnósticas amplamente empregadas nas avaliações de paleoambiente deposicional. A técnica da CG-EM/EM no modo MRM mostrou-se mais eficiente para o grupo de amostras de extratos de rochas do que para as de petróleos. Entretanto, para amostras que apresentarem maior grau de maturidade, recomenda-se o uso CG-EM/EM no modo MRM para família dos esteranos. As análises estatísticas aplicadas nesse estudo, como PCA e teste t, corroboraram com as análises qualitativas, posto que de modo geral as amostras se agruparam de acordo com seus paleoambientes deposicionais, mostrando diferenças entre os modos de monitoramento utilizados.

Palavras chave: Biomarcadores, CG-EM/EM, Razões diagnósticas, paleoambiente deposicional

ABSTRACT

The present work is derived from the project entitled "Advanced Molecular Characterization Project" belonging to the Center of Excellence in Oil Geochemistry of the Federal University of Bahia (UFBA), which received financial support from Royal Dutch Shell through the "Commitment to Investments in Research and Development" with the National Petroleum Agency (ANP), within the scope of GEOQPETROL Program. Saturated biomarkers of petroleum are highly complex organic compounds found in low concentrations in virtually all types of oils and source rocks. These biomarkers have been extensively investigated at the molecular level and used in geochemical diagnostic ratios to obtain information on the physicochemical conditions of the depositional paleoenvironment of the source rock, on the origin and input of the organic matter, the degree of thermal maturity and the level of biodegradation of the oils. The use of gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) makes it possible to identify these compounds, however, due to the complexity of the samples and the high intrinsic similarity to these types of compounds, it is necessary a more sensitive equipment allowing a higher level of sensitivity, as an example of the gas chromatograph coupled to triple quadrupole mass spectrometry (CG-MS / MS). The aim of this work was to optimize a method for analysis of source rock extracts and crude oil for determination the saturated biomarkers by GC-MS / MS in MRM mode and compare qualitatively and by multivariate statistical analysis the effects on the behavior of the diagnostic ratios, obtained by the modes SIM and MRM, used in the geochemical evaluations of depositional paleoenvironment of the source rock. Five crude oil samples and eight source rocks from Brazilian sedimentary basins with different characteristics were used. The extraction of soluble organic matter from the rocks was carried out by accelerated extraction of solvent and obtaining the saturated fraction by column chromatography. The results of the chromatographic analyses, in the SIM and MRM modes, showed that there were differences between the two modes, in relation to the resolution of certain compounds, as well as in the trend of increasing or decreasing diagnostic ratios widely employed in the depositional paleoenvironment. The GC-MS / MS technique in the MRM mode was more accurate for the group of rock extract samples than for the oils. However, for samples with a higher degree of maturity, as in the case of the oils studied, it is recommended to use GC-MS / MS in the MRM mode for the sterane family. The statistical analyses applied in this study, such as PCA and t-test, corroborated with the qualitative analyzes, since in general the samples were grouped according to their depositional paleoenvironments, showing differences between the monitoring modes used.

Palavras chave: Biomarkers; CG-MS/MS; diagnostic ratios; depositional paleoenvironment

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS.....	14
3	MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1	SELEÇÃO DE AMOSTRAS DE ROCHAS GERADORAS E DE PETRÓLEO	16
3.2	MATERIAIS E REAGENTES.....	19
3.3	PREPARO DAS AMOSTRAS DE ROCHA GERADORA.....	19
3.4	EXTRAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA SOLÚVEL DAS AMOSTRAS DE ROCHA GERADORA	20
3.5	FRACIONAMENTO DAS AMOSTRAS DE PETRÓLEO BRUTO E DE EXTRATOS DE ROCHA GERADORA	20
3.6	ANÁLISE DE BIOMARCADORES SATURADOS POR CG-EM/EM	21
3.7	TRATAMENTO DOS DADOS E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS	24
4	DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES SATURADOS EM EXTRATOS DE ROCHAS GERADORAS E PETRÓLEOS: COMPARAÇÃO ENTRE OS MODOS SIM E MRM DA CG-EM/EM ATRAVÉS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA.....	25
4.1	INTRODUÇÃO.....	26
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.2.1	Seleção de amostras de rochas geradoras e de petróleo.....	27
4.2.2	Preparação das amostras de rocha geradora.....	27
4.2.3	Fracionamento das amostras de petróleo bruto e dos extratos de rocha geradora	28
4.2.4	Análise de biomarcadores saturados pelo CG-EM/EM.....	29
4.2.5	Tratamento dos dados e identificação dos compostos.....	32
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.3.1	Amostras de extratos de rochas geradoras.....	33
5.3.2	Amostras de óleo.....	51
5.3.3	Razões diagnósticas de biomarcadores.....	63
5.3.4	Análise estatística multivariada dos dados de biomarcadores	68
5.3.5	Comparação entre os resultados das razões diagnósticas obtidos pelos modos SIM e o MRM da análise por CG-EM/EM.....	70
5.4	CONCLUSÕES DO ARTIGO	71
5	CONCLUSÃO.....	73
	REFERÊNCIAS	74
	APÊNDICES	80

1 INTRODUÇÃO

O território brasileiro possui tipos distintos de bacias sedimentares datadas das eras Paleozoica a Cenozoica, denominadas como bacias marginais e intracratônicas (KLEMME, 1980). Estas bacias foram afetadas por diferentes ambientes tectônicos e magmáticos, aos quais foram sujeitas a diversos mecanismos e regimes de subsidência. Esses eventos estão relacionados aos variados estágios de evolução da Plataforma Brasileira. (ZALAN, 2004; MARTINS-NETO, 2006).

Por apresentarem diferentes tipos de rochas geradoras de petróleo, as bacias sedimentares geram petróleos com diferentes características químicas. Essas características são resultantes do tipo de matéria orgânica e das condições físico-químicas dos paleoambientes deposicionais nos quais esse material orgânico, que dá origem a esse petróleo foi depositado. Esses paleoambientes deposicionais são classificados em: lacustre de água doce, lacustre de água salgada, ambientes marinhos e marinhos hipersalinos (TISSOT; WELTE, 1984).

O petróleo é resultante de transformações físicas, químicas e biológicas da matéria orgânica acumulada em rochas geradoras, juntamente com os sedimentos. Estas transformações foram catalisadas por condições adequadas de temperatura ao longo do tempo geológico (TISSOT; WELTE, 1984; WANG et al., 1999; MILANI, 2000). O processo de transformação compreende a conversão das biomoléculas formadoras da matéria orgânica em querogênio e, posteriormente, em componentes do petróleo. Após ser gerado na rocha geradora o petróleo migra por falhas geológicas até encontrar rochas mais porosas denominadas reservatórios, nas quais se acumula (TISSOT; WELTE, 1984).

O petróleo trata-se de uma mistura complexa de compostos orgânicos, onde quase sua totalidade é composta por moléculas de hidrocarbonetos, a qual é expressa em função dos compostos alifáticos, cíclicos e os compostos aromáticos (TISSOT; WELTE, 1984; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; BAYONA; DOMÍNGUEZ; ALBAIGÉS, 2015). De acordo com as suas características físico-químicas, o petróleo pode ser separado em 3 frações principais, constituídas pelos hidrocarbonetos saturados, hidrocarbonetos aromáticos e pelos compostos polares, dos quais fazem parte as resinas e os asfaltenos (TISSOT; WELTE, 1984; THOMAS, 2001; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; BISSADA et al., 2016).

Nos petróleos e nos extratos de rochas geradoras há um importante grupo de hidrocarbonetos denominados de biomarcadores ou marcadores biológicos, fundamentais para as avaliações geoquímicas. Estas moléculas orgânicas são complexas e provenientes de organismos vivos que, sob condições geoquímicas adequadas, mantiveram suas estruturas básicas inalteradas. (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; THEOBALD; HUEBSCHMANN, 2008; FINGAS, 2011; SPEIGHT, 2014; YANG et al., 2017).

Tendo em vista a maior estabilidade atribuída aos biomarcadores em relação aos outros grupos de hidrocarbonetos, estes, frequentemente, são utilizados como fósseis moleculares. Eles são empregados para indicar o *input* de matéria orgânica, tipo do paleoambiente deposicional no qual a matéria orgânica foi depositada e sua maturação térmica. Eles também são usados no monitoramento de processos de intempéricos sofridos por petróleos quando derramados no meio ambiente (SEIFEK; MOLDOWAN, 1981; SIMONEIT, 2005; THEOBALD; HUEBSCHMANN, 2008; OKUNOVA et al., 2010; FINGAS, 2011; MULAGABAL et al., 2013; REYES, 2014; ZHANG et al., 2015; YANG et al., 2017).

Os biomarcadores saturados são provenientes de moléculas biológicas sintetizadas, pelos organismos vivos, através de diferentes processos de polimerização da unidade estrutural básica conhecida como terpeno (metil butadieno) (BERTHOD et al., 1998; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). São subdivididos em famílias cuja classificação ocorre de acordo com o número aproximado de subunidades de terpeno que compõem as moléculas de seus precursores biológicos. Dentre elas estão os hemiterpanos (C5), monoterpanos (C10), sesquiterpanos (C15), diterpanos (C20), sesterterpanos (C25), triterpanos e esteranos (C30), tetraterpanos (C40) e politerpanos (C45) (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

Dentre os biomarcadores saturados, aqueles classificados como triterpanos e esteranos são de grande relevância nos estudos geoquímicos de óleos e rochas geradoras (PHLLP; OUNG, 1988; SIMONEIT, 2005). O primeiro grupo tem como principal precursor biológico o bacteriohopanotetrol, proveniente das membranas celulares de organismos vivos menos evoluídos, os procariontes, enquanto os esteranos (colestanos, ergostanos e estigmastanos) têm como precursores biológicos: colesterol, ergosterol e estigmasterol, encontrados em membranas celulares dos eucariontes (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

Os compostos do petróleo podem ser separados e identificados com a utilização de técnicas clássicas, como por exemplo cromatografia líquida em coluna, assim como, através de técnicas instrumentais mais sofisticadas, como a cromatografia gasosa de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo (CG-EM/EM) (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; MARTINS et al., 2015; NELSON et al., 2016). A cromatografia gasosa de alta eficiência exerce um papel importante na separação e identificação dos compostos presentes em misturas complexas como aquelas existentes em extratos de rochas geradoras e nos petróleos, sendo empregada tanto para análises quantitativas como qualitativas (WANG; FINGAS, 2003; YANG et al., 2017). Os modernos métodos analíticos e de instrumentação possibilitaram a realização de análises geoquímicas capazes de caracterizar quimicamente petróleos e relacioná-los ao tipo de matéria orgânica e às condições que lhes deram origem, como por exemplo, a composição em termos de *n*-alcanos, isoprenoides e biomarcadores (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; WANG; YANG; FINGAS; HOLLEBONE; YIM; OH, 2007; OKUNOVA et al., 2010).

A principal ferramenta escolhida, nas últimas décadas, para a determinação de biomarcadores saturados é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) no modo SIM (*Select Ion Monitoring*) (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; NELSON et al., 2016). A CG-EM trata-se de uma técnica eficiente por combinar funções de um cromatógrafo a gás (separação dos compostos orgânicos individuais), com espectrometria de massas (ionização e detecção de íons de acordo com a razão massa/carga) (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; SIMONEIT, 2005; GRAYSON, 2016).

As moléculas dos biomarcadores policíclicos saturados são altamente ramificadas, levando à existência de famílias de estereoisômeros. Em função da similaridade química destes estereoisômeros são necessárias técnicas de separação, identificação e quantificação sofisticadas (MOLDOWAN; SEIFERT, 1984; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). Embora a técnica da CG-EM seja muito empregada para a análise de biomarcadores, em casos onde ocorre a coeluição de compostos similares ela não é eficiente, para estes casos, é indicada a CG-EM/EM (PHILP; OUNG; LEWIS, 1988; BAYONA; DOMÍNGUEZ; ALBAIGÉS, 2015; NELSON et al., 2016).

A utilização da técnica da CG-EM/EM promove um aumento significativo na sensibilidade, seletividade e precisão quando comparada à CG-EM e tem recebido destaque na análise de biomarcadores (PHILP; OUNG; YULEWIS, 1990; SIMONEIT,

2005), embora o custo da sua instrumentação seja elevado. Essa técnica abrange o modo triplo quadrupolo, *tandem* magnético e o híbrido magnético quadrupolo. O modo triplo quadrupolo é baseada na fragmentação dos íons precursores, gerados na fonte de íons do espectrômetro de massas, em íons menores (íons produtos), sendo estes íons relacionados às suas moléculas precursoras, o que permite a aquisição no modo de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM), em inglês, *Multiple Reaction Monitoring* (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; CHURLEY et al., 2009). Estes métodos apresentam uma seletividade analítica significativa capaz de solucionar problemas de interferências de coeluição de compostos desde que estes apresentem espectros de massas diferentes (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

Um espectrômetro de massas do EM/EM típico consiste do acoplamento de três quadrupolos conectados em série (triplo quadrupolo), onde o primeiro trata-se de um analisador de massa (Q1) ou quadrupolo precursor, o segundo refere-se a um quadrupolo de célula de colisão (Q2) e o terceiro a outro analisador de massa (Q3) ou quadrupolo de produto (PHILP et al., 1990; SIMONEIT, 2005; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; CHURLEY et al., 2009).

O processo de funcionamento de um CG-EM convencional ocorre através de uma única fragmentação em que permite a aquisição no modo SIM, ou seja, o monitoramento de íons individualmente, no qual fornece um único cromatograma de massas, podendo apresentar coeluição de alguns dos biomarcadores (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

As aplicações e as vantagens da utilização da técnica CG-EM/EM sobre a CG-EM, são reportadas na literatura para análise de diversas matrizes (FOWLER; BROOK, 1990; CRISTALE; SILVA; MARCHI, 2008; JONH et al., 2014; ADHIKARI; WONG; OVERTON, 2017). Os biomarcadores saturados detectados por ambas as técnicas têm sido empregados na definição de razões diagnósticas, referentes à caracterização de rochas geradoras e de petróleos (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

Dependendo dos compostos usados nas razões diagnósticas são retiradas informações importantes para o estudo de correlação óleo-rocha geradora, isto é, verificar se o óleo em questão foi gerado por uma determinada rocha com características de geradora, e se um ou mais petróleos tem a mesma origem genética (correlação óleo-óleo). Estas correlações contribuem para a definição dos elementos geológicos de um sistema petrolífero (rocha geradora, rocha reservatório e rocha selante) e dos processos que foram responsáveis pela geração, migração e preenchimento dos reservatórios, assim como para

o conhecimento de processos que ocorreram pós-acumulação do óleo, como a sua biodegradação em reservatório. Essas razões diagnósticas são obtidas através da divisão entre as áreas integradas dos compostos separados pela coluna cromatográfica e identificados pelo espectrômetro de massas (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

Dentre os parâmetros empregados nas avaliações de *input* e origem da matéria orgânica e das condições do paleoambiente deposicional, encontra-se o índice de homohopanos C₃₅ (C₃₅ HHI) correspondente à razão $C_{35}/\sum C_{31}-C_{35}$ homohopanos (22S e 22R) utilizado para indicar o grau de oxidação sob o qual os sedimentos marinhos foram depositados. Elevados valores de C₃₅ HHI (> 0,1) indicam condições anóxicas, comumente associadas a carbonatos marinhos ou evaporitos, corroborando na caracterização do ambiente de deposição da rocha geradora. O índice de gamacerano reflete o nível de salinidade, assim como a existência de estratificação na coluna d'água do paleoambiente deposicional (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

A distribuição dos esteranos regulares com 27 a 29 átomos de carbono plotados em diagrama ternário, como sugerido por Huang e Meinschein (1979), em que a abundância do colestano é indicativo de predomínio de organismos fitoplanctônicos marinhos, o ergostano, que comumente está em menor abundância, é indicativo de uma contribuição algálica lacustre e estigmastano indicaria contribuição terrestre.

A razão hopanos/esteranos (HOP/EST) é utilizada para determinar a contribuição relativa de matéria orgânica procariota (bactéria) versus eucariota (principalmente algas e plantas superiores) nas rochas. Para paleoambiente marinho com contribuição de plâncton e/ou algas o valor da razão HOP/EST < 5 e HOP/EST entre 4 e 7, indicam deposição em paleoambiente transicional, com contribuição de matéria orgânica terrestre (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

A abundância dos tetracíclicos poliprenoides (TPP) com relação aos diaesteranos, através da razão $C_{30}TPP/diasteranos$, é utilizada para reconhecer o *input* de organismos de água doce/salobra em rochas geradoras de ambientes lacustres, deltaicos, marinhos/não-marinhos e ainda fácies de ambientes transicionais. Os valores elevados dessa razão sugerem paleoambiente deposicional de água doce/salobra, enquanto valores baixos de concentração advertem para uma deposição em paleoambiente marinho (HOLBA et al., 2000, 2003; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

A comparação entre a caracterização geoquímica orgânica de petróleos e extratos de rochas geradoras de diferentes bacias sedimentares brasileiras, através dos

biomarcadores saturados (triterpanos e esteranos), utilizando-se os modos analíticos distintos (SIM e MRM) é de extrema importância. Esta avaliação permitirá melhorar a investigação sobre os efeitos de possíveis coeluições de compostos, com características químicas similares, sobre os índices e parâmetros geoquímicos causado pelas diferentes sensibilidades dos métodos.

2 OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Otimização de um método analítico para identificação simultânea de biomarcadores saturados do petróleo por CG-EM/EM para uso nos cálculos das razões diagnósticas indicativas, dentre outros parâmetros geoquímicos, das condições físico-químicas do paleoambiente deposicional da rocha geradora.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

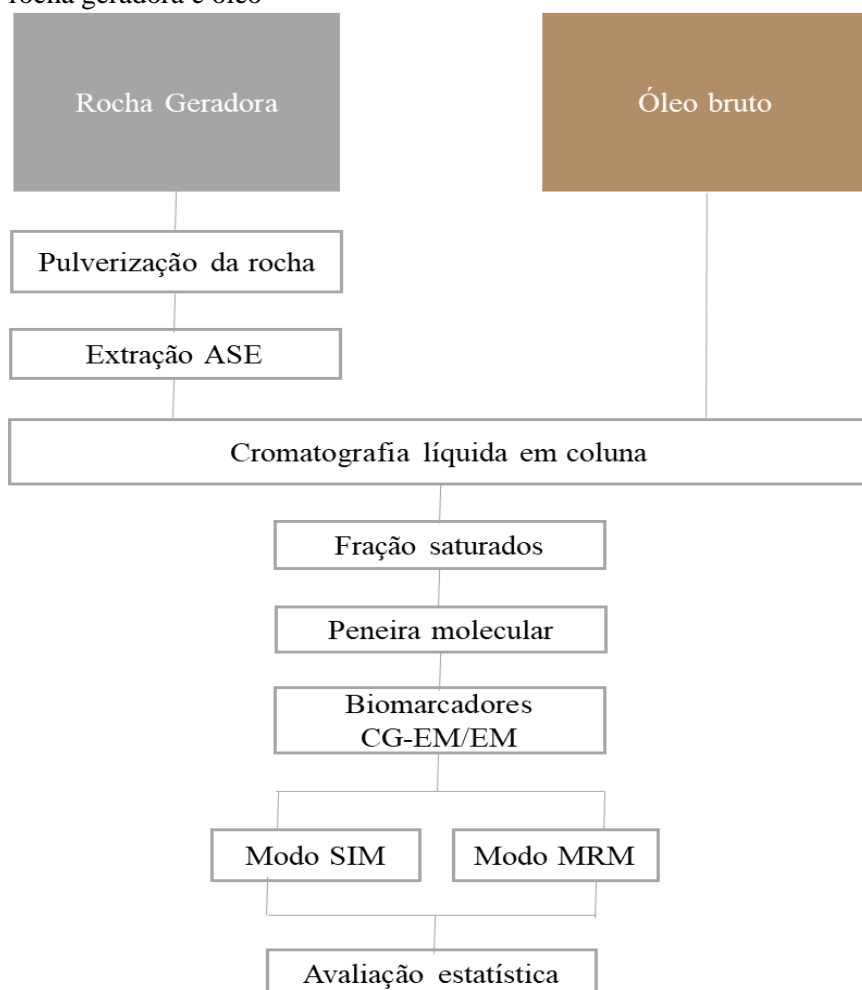
- Otimizar um método analítico no CG-EM/EM para determinação dos biomarcadores saturados do petróleo compreendidos pelas famílias dos triterpanos e esteranos;
- caracterizar qualitativamente os biomarcadores saturados encontrados em amostras de petróleo e de extratos de rocha geradora obtidas das bacias sedimentares brasileiras de Potiguar, Santos, Parnaíba e Paraná;
- comparar qualitativamente os resultados obtidos para as razões diagnósticas dos biomarcadores saturados obtidas no CG-EM/EM no modo SIM e no modo MRM para os diferentes tipos de amostras analisadas, através do uso de análise estatística multivariada dos dados, como a Análise das Componentes Principais (PCA) e teste t pareado.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir serão apresentados os materiais e métodos usados para otimizar a identificação simultânea de biomarcadores saturados do petróleo e de extratos de rochas geradoras por CG-EM/EM, através da comparação qualitativa entre os modos SIM e MRM. A identificação desses compostos é importante para os cálculos das razões diagnósticas indicativas das condições físico-químicas dos paleoambiente deposicionais das rochas geradoras e foram aplicadas nas bacias Potiguar, Santos, Parnaíba e Paraná. Para comparar a eficiência dos dois modos de análise por CG no modo SIM e MRM, os dados obtidos foram tratados por métodos estatísticos multivariados empregando a Análise de Componentes Principais (PCA) e o teste t pareado.

Na Figura 1 pode-se visualizar o fluxograma da sequência analítica utilizada nesse para este trabalho.

Figura 1 - Fluxograma dos trabalhos laboratoriais realizados no Lepetro com as amostras de rocha geradora e óleo



3.1 SELEÇÃO DE AMOSTRAS DE ROCHAS GERADORAS E DE PETRÓLEO

Foram utilizadas amostras de petróleo bruto e de rocha geradora provenientes das bacias petrolíferas brasileiras de Potiguar, Santos, Paraná e Parnaíba. No Quadro 1 encontram-se as informações referentes às bacias sedimentares, às formações geológicas, períodos geológicos e paleoambientes deposicionais correspondentes às rochas geradoras.

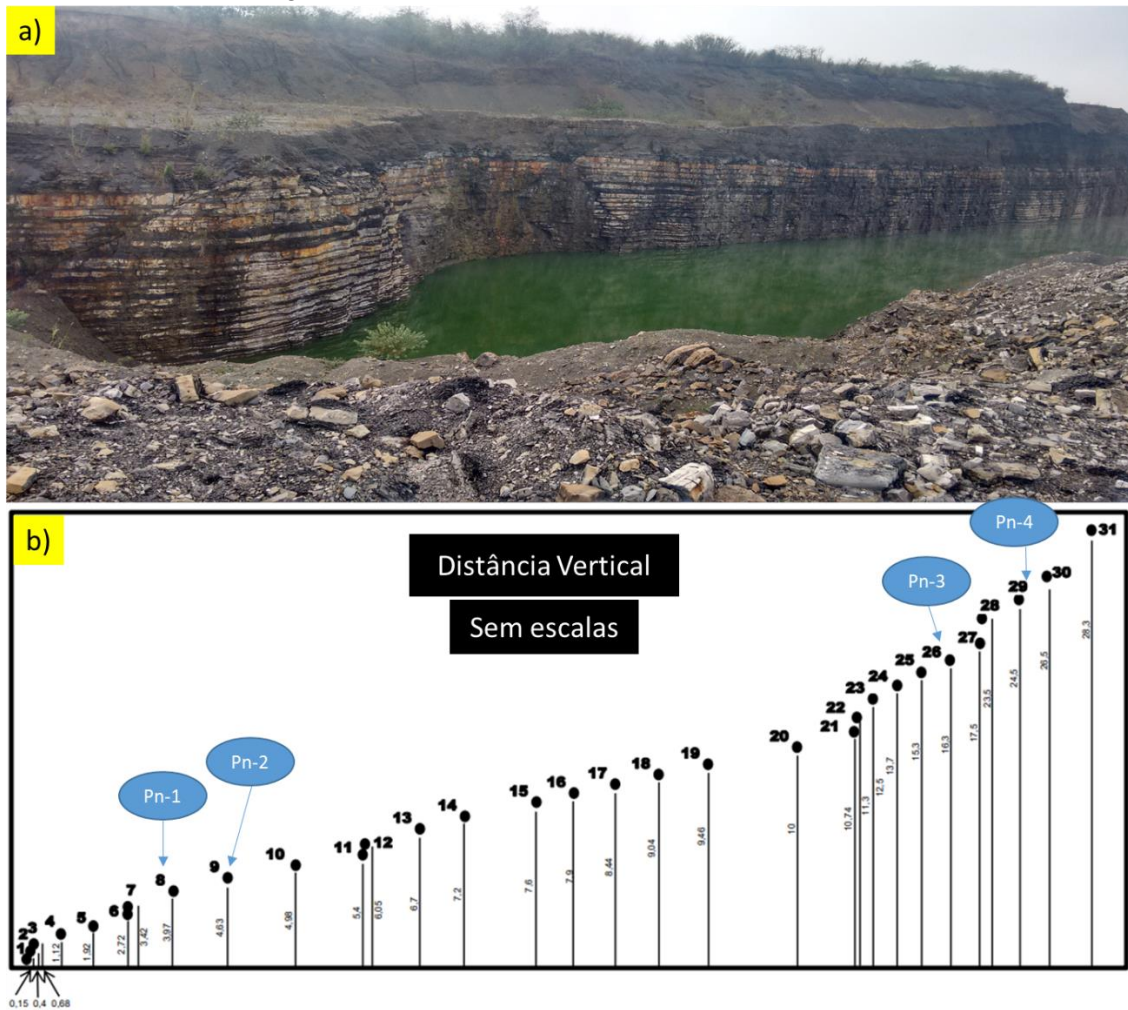
Quadro 1 – Informações geológicas sobre as bacias sedimentares utilizadas neste trabalho

CÓDIGO	MATRIZ	BACIA	FORMAÇÃO	PERÍODO GEOLÓGICO	PELEOAMBIENTE DEPOSICIONAL
OS	Óleo	Santos	Piçarros	Cretáceo	Lacustre salino
OP-1	Óleo	Potiguar	Alagamar	Cretáceo	Marinho evaporítico
OP-2	Óleo	Potiguar	Alagamar	Cretáceo	Marinho evaporítico
OP-3	Óleo	Potiguar	Pendência e Pescada	Cretáceo	Lacustre doce
OP-4	Óleo	Potiguar	Pendência e Pescada	Cretáceo	Lacustre doce
Pn-1	Rocha	Paraná	Irati	Permiano	Marinho hipersalino
Pn-2	Rocha	Paraná	Irati	Permiano	Marinho hipersalino
Pn-3	Rocha	Paraná	Irati	Permiano	Marinho/Transicional
Pn-4	Rocha	Paraná	Irati	Permiano	Marinho/Transicional
Pb-1	Rocha	Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho/Transicional
Pb-2	Rocha	Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho/Transicional
Pb-3	Rocha	Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho
Pb-4	Rocha	Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho

Fonte: Zambrano (2015); Reyes (2015); Alves (2018); Martins (2018).

Em relação às amostras de rocha, cedidas pelo grupo Geopetrol, tiveram procedências das Bacias do Paraná (Pn) e Parnaíba (Pb). As amostras da Formação (Fm.) Irati, foram coletadas em afloramento localizado na borda leste da Bacia do Paraná, na região de Piracicaba, Estado de São Paulo, nas coordenadas 7.464.745/222.466. Este afloramento, denominado de Amaral Machado, é um recorte de pedreira que forma uma parede com direção NW/SE e dimensões de aproximadamente 450 m de extensão por 30 m de altura (Figura 2a). No presente trabalho, utilizou-se duas amostras da base (Pn-1 e Pn-2) e duas amostras do topo (Pn-3 e Pn-4) desse afloramento.

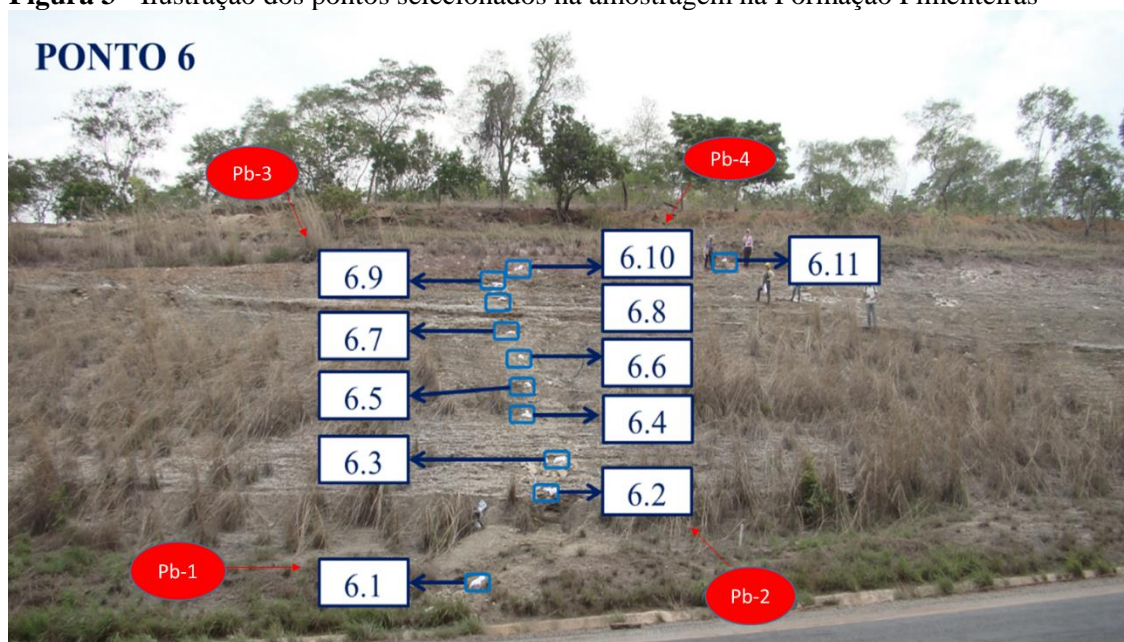
Figura 2 - Visão geral da pedreira da Mineração Amaral Machado (a) e Ilustração dos pontos selecionados na amostragem realizada na Amaral Machado (b)



Fonte: Adaptado de Martins (2018).

Já em relação à Bacia do Parnaíba, as amostras foram coletadas da Fm. Pimenteiras, em um afloramento localizado na margem oeste do Km 399 da rodovia BR-153 (Belém - Brasília), com coordenadas geográficas: latitude 9° 25' 22,3" e longitude 48° 34' 20,5". Esse afloramento foi identificado como "Ponto 6", do qual foram utilizadas duas amostras da base (Pb-1 e Pb-2) e duas amostras do topo (Pb-3 e Pb-4) (Figura 3).

Figura 3 - Ilustração dos pontos selecionados na amostragem na Formação Pimenteiras



Fonte: Adaptado de Zambrano (2015).

Os procedimentos de coleta das amostras das bacias do Paraná e Parnaíba, tais como: forma, quantidade amostrada e seu armazenamento estão descritos em Martins (2018) e Zambrano (2015), respectivamente.

Todas as amostras de rocha geradora selecionadas tiveram seus valores percentuais de Carbono Orgânico Total (COT%) avaliados em trabalhos anteriores, e os dados foram fornecidos pelo grupo Geoqpetrol, conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT%) das amostras de rocha geradoras dos afloramentos da pedreira Amaral Machado (Pn) (Formação Irati, Bacia do Paraná) e do Ponto 6 (Pb) (Formação Pimenteiras, Bacia do Parnaíba).

Amostras	COT (%)
Pn-1	6,74
Pn-2	7,96
Pn-3	0,5
Pn-4	0,36
Pb-1	0,98
Pb-2	1,07
Pb-3	2,93
Pn-4	3,12

Fonte: Geoqpetrol (2019).

Quanto às amostras de petróleo, provenientes das Bacias de Santos (OS) e Potiguar (OP-1, OP-2, OP-3 e OP-4), a forma de obtenção das mesmas está descrita nos trabalhos de tese de Reyes (2015) e da dissertação de Alves (2016), respectivamente.

3.2 MATERIAIS E REAGENTES

Os reagentes utilizados nos procedimentos de preparo de amostras foram: diclorometano (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), nitrogênio (White Martins Gases Industriais Ltda, Rio de Janeiro, Brasil), terra de diatomáceas (Thermo Scientific, Califórnia, Estados Unidos), *n*-hexano (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), papel de filtro de celulose para extração ASE (Thermo Scientific, Califórnia, Estados Unidos), sílica gel (0,063-0,200mm) (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), sulfato de sódio (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), peneira molecular 5Å (Sigma-Alorich, São Paulo, Brasil), ciclohexano (Nuclear, Marca, São Paulo, Brasil).

Para as análises cromatográficas por CG-EM/EM utilizou-se hélio como gás de arraste, pureza 99,999% (White Martins Gases Industriais Ltda, Rio de Janeiro, Brasil), coluna HP-5MS Ultra Inert (5% fenil 95% dimetilpolisiloxano, Agilent Technologies) com dimensões de 30 m de comprimento 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme e uma segunda coluna, denominada de *backflush* com dimensões de 5 m de comprimento e 0,18 µm de espessura de filme (Agilent Technologies). O gás utilizado na célula de colisão foi nitrogênio, pureza 99,999% (White Martins Gases Industriais Ltda, Rio de Janeiro, Brasil).

3.3 PREPARO DAS AMOSTRAS DE ROCHA GERADORA

As rochas geradoras foram previamente desagregadas moídas em moinho de esfera planetário de ágata (Retsch GmbH, modelo PM400) e peneiradas utilizando uma peneira com abertura de 80 mesh a fim de se obter uma granulometria inferior a 80 mesh, as quais foram utilizadas para todos os procedimentos descritos nessa dissertação.

3.4 EXTRAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA SOLÚVEL DAS AMOSTRAS DE ROCHA GERADORA

Para a extração da matéria orgânica das amostras de rocha geradora empregou-se a extração acelerada com solventes (ASE), utilizando-se o equipamento Dionex modelo ASE 350 (ThermoFisher Scientific, Califórnia, Estados Unidos). Foram empregadas células de aço inoxidável com capacidade de 100 mL e frascos coletores de vidro com capacidade de 250 mL. As amostras de rocha geradora foram pesadas com massas entre 10 g a 80 g, essas quantidades variaram conforme o percentual de COT (Tabela 1) para cada amostra e, posteriormente, adicionou-se cerca de 20% de terra diatomácea a fim de se retirar umidade das amostras. Após essa etapa de pesagem, as amostras foram inseridas na célula contendo papel filtro e o restante do espaço vazio foi preenchido com terra diatomácea. As condições adotadas para a extração foram: temperatura de 150 °C por 7 minutos, seguido por uma extração estática de 5 minutos, que se repetiu por dois ciclos. O solvente empregado foi o diclorometano, com volume de enxague de 75% do volume da célula por 60 s. Nitrogênio foi utilizado como gás de purga a uma pressão de 1500 psi. Os eluatos obtidos foram pré-concentrados em rotaevaporador (BÜCHI®, Modelo R-210) e transferidos para vials de 2 mL para posterior análise. As condições de extração foram baseadas no método EPA 3545^a.

3.5 FRACIONAMENTO DAS AMOSTRAS DE PETRÓLEO BRUTO E DE EXTRATOS DE ROCHA GERADORA

A cromatografia líquida em coluna foi utilizada com a finalidade de se obter a fração dos hidrocarbonetos saturados. Para isso, foi utilizada uma coluna de vidro cujas dimensões foram de 19 cm de comprimento por 2 cm de diâmetro. As colunas de vidros foram empacotadas com sílica gel (previamente seca em mufla (QUIMIS®), a temperatura de 400 °C por 4 h) até altura de 12 cm da coluna utilizando *n*-hexano como solvente.

Para as amostras de óleo foram pesadas aproximadamente 20 mg em uma balança analítica (METTLER TOLEDO, AG285) e misturada com aproximadamente 0,5 g de sulfato de sódio, a mistura foi depositada lentamente sobre o topo da coluna. Para as amostras de extrato de rocha geradora (item 3.4), estas foram transferidas diretamente para o topo da coluna. A fração de interesse, referente aos hidrocarbonetos saturados, foi

obtida pela eluição de 30 mL de *n*-hexano. Todas as frações foram pré-concentradas a, aproximadamente, 1 mL em rota-evaporador (BÜCHI®, R-210) e transferidas para vials previamente pesados em balança analítica.

Posteriormente, as frações dos hidrocarbonetos saturados obtidas das amostras de extrato de rocha e óleo bruto foram submetidas a uma etapa de *cleanup* utilizando peneira molecular 5Å (CHENG et al., 2018) objetivando a retirada dos alcanos lineares. Para tal, adicionou-se 1 mL do ciclohexano e 0,5 g peneira molecular aos *vials*. Os frascos foram tampados e deixados *overnight*. Na sequência, o sobrenadante contendo a fração cíclica de interesse foi transferido para *insert*, previamente pesado e completou-se o volume com ciclohexano até concentração de 0,05 mg μL^{-1} .

3.6 ANÁLISE DE BIOMARCADORES SATURADOS POR CG-EM/EM

As amostras fracionadas foram injetadas em um cromatógrafo a gás Agilent 7890B acoplado a um espectrômetro de massas Agilent 7000D triplo quadrupolo com *autosampler* (G4513A) modo de ionização por impacto eletrônico (EI) a 70 eV. A separação cromatográfica foi realizada em coluna capilar HP-5MS Ultra Inert (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Como gás de arraste utilizou-se hélio com fluxo de 1 mL min^{-1} . As condições cromatográficas ótimas empregadas foram as seguintes: injeção de 1 μL da amostra no modo *splitless* com injetor a 300 °C, a temperatura da interface e fonte de íons foram de 205 °C e 230 °C, respectivamente. Para a separação a programação de temperatura do forno iniciou em 55 °C por 2 minutos, tendo sido aquecido a 20 °C min^{-1} até 200 °C, onde permaneceu por 3 minutos e com taxa de aquecimento de 1,5 °C min^{-1} até 290 °C (durante 8 minutos).

Essas análises foram realizadas a fim de identificar os seguintes biomarcadores saturados do petróleo, citados nas Tabelas 2, 3 e 4.

Foram empregados dois modos de aquisição do Espectrômetro de Massas (EM): modo SIM a fim de reproduzir estudos convencionais para este tipo de composto e modo MRM para verificar o potencial desta ferramenta na identificação dos biomarcadores estudados. Para o modo SIM os íons monitorados foram: *m/z* 191 (triterpanos), *m/z* 217 (esteranos e diaesteranos) e *m/z* 259 (poliprenoides tetracíclicos e diaesteranos), identificados com base na ordem de eluição de trabalhos da literatura como Rangel e colaboradores (2017), Sefein, Nguyen e Philp (2017), Liu, Zhang e Li (2014), Petersen, Nytoft, Nielsen (2004), De Grande, Aquino-Neto, Melo (1993).

Tabela 2 - Condições otimizadas para os compostos da família dos triterpanos

Código	Composto	MRM (<i>m/z</i>)	TJ	CID (eV)
TR19	C19 terpano tricíclico	262,3→ 191,2	1	10
TR20	C20 terpano tricíclico	276,3→ 191,2	1	10
TR21	C21 terpano tricíclico	290,3→ 191,2	2	10
TR22	C22 terpano tricíclico	304,3→ 191,2	2	10
TR23	C23 terpano tricíclico	318,3→ 191,2	2	10
TR24	C24 terpano tricíclico	332,3→ 191,2	2	10
TR25A	C25 terpano tricíclico (α)	346,4→ 191,2	2	10
TR25B	C25 terpano tricíclico (β)	346,4→ 191,2	2	10
TET24	C24 terpano tetracíclico	330,3→ 191,2	2	10
TR26A	C26 terpano tricíclico (α)	360,4→ 191,2	2	10
TR26B	C26 terpano tricíclico (β)	360,4→ 191,2	2	10
TR28A	C28 terpano tricíclico (α)	388,4→ 191,2	3	10
TR28B	C28 terpano tricíclico (β)	388,4→ 191,2	3	10
TR29A	C29 terpano tricíclico (α)	402,4→ 191,2	4	10
TR29B	C29 terpano tricíclico (β)	402,4→ 191,2	4	10
Ts	18 α (H),21 β (H)-22,29,30-trisnorneohopano	370,4→ 191,2	5	10
Tm	17 α (H),21 β (H)-22,29,30-trisnorhopano	370,4→ 191,2	5	10
TR30A	C30 terpano tricíclico (α)	416,4→ 191,2	5	10
TR30B	C30 terpano tricíclico (β)	416,4→ 191,2	5	10
H28	17 α (H),18 α (H),21 β (H)-28,30-bisnorhopano	384,4→ 191,2	5	10
H29	17 α (H),18 α (H),21 β (H)-norhopano	398,4→ 191,2	5	10
C29Ts	18 α (H),21 β (H)-30-norneohopano	398,4→ 191,2	5	10
DH30	17 α (H)diahopano	412,4→ 191,2	5	10
M29	17 α (H),21 β (H)-30-norhopano (normoretano)	398,4→ 191,2	5	10
H30	17 α (H),21 β (H)-hopano	412,4→ 191,2	6	10
M30	17 β (H),21 α (H)-hopano (moretano)	412,4→ 191,2	6	10
H31S	17 α (H),21 β (H)-30-homohopano(22S)	426,4→ 191,2	7	10
H31R	17 α (H),21 β (H)-30-homohopane(22R)	426,4→ 191,2	7	10
GAM	Gamacerano	412,4→ 191,2	7	10
H32S	17 α (H),21 β (H)-30,31-bishomohopano(22S)	440,4→ 191,2	7	10
H32R	17 α (H),21 β (H)-30,31-bishomohopano(22R)	440,4→ 191,2	7	10
H33S	17 α (H),21 β (H)-30,31,32-trishomohopano(22S)	454,4→ 191,2	7	10
H33R	17 α (H),21 β (H)-30,31,32-trishomohopano(22R)	454,4→ 191,2	7	10
H34S	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33-tetrakishomohopano(22S)	468,5→ 191,2	7	10
H34R	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33-tetrakishomohopano(22R)	468,5→ 191,2	7	10
H35S	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33,34-pentakishomohopano(22S)	482,5→ 191,2	7	10
H35R	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33,34-pentakishomohopano(22R)	482,5→ 191,2	7	10

Tabela 3 - Condições otimizadas para os compostos da família dos esteranos

Código	Composto	Precursor	Produto	TJ	CID (eV)
S20	C20 5 α (H),14 α (H),17 α (H)-esterano	274,3 \rightarrow	217,2	1	10
S21	C21 5 α (H),14 β (H),17 β (H)-esterano	288,3 \rightarrow	217,2	2	10
S22	C22 5 α (H),14 β (H),17 β (H)-esterano	302,3 \rightarrow	217,2	2	10
DIA27S	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA27R	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA27 SS	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA27RR	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
C27S	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-colestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	4	10
C27BBR	5 α (H),14 β (H),17 β (H)-colestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	4	10
C27BBS	5 α (H),14 β (H),17 β (H)- colestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	4	10
C27R	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-colestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA28S	13 β (H),17 α (H)-diaergostano (20S)	386,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA28R	13 β (H),17 α (H)-diaergostano (20R)	386,4 \rightarrow	217,2	4	10
DIA28SS	13 α (H),17 β (H)-diaergostano (20S)	386,4 \rightarrow	217,2	4	10
DIA28RR	13 α (H),17 β (H)-diaergostano (20R)	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28S	C28 20S-5 α (H), 14 α (H), 17 α (H)-ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28BBR	C28 20R-5 α (H), 14 β (H), 17 β (H)- ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28BBS	C28 20S-5 α (H), 14 β (H),17 β (H)- ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28R	C28 20R-5 α (H), 14 α (H), 17 α (H)- ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA29S	13 β (H),17 α (H)-diaestigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	4	10
DIA29R	13 β (H),17 α (H)-diaestigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA29SS	13 α (H),17 β (H)-diaestigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA29RR	13 α (H),17 β (H)-diaestigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29S	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-estigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29BBR	5 α (H),14 β (H),17 β (H)-estigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29BBS	5 α (H),14 β (H),17 β (H)-estigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29R	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-estigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10

Tabela 4 - Condições otimizadas para os compostos da família dos diasteranos e TPP

Código	Composto	Precursor	Produto	TJ	CID (eV)
DIA 27S	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
DIA 27R	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
DIA27 SS	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
DIA 27RR	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
C30 TPP	C30 Tetracíclico poliprenoide	414,4 \rightarrow	259,3	5	10

Tabela 5 - Tempo de retenção para cada tempo de janela na análise MRM

Tempo da Janela (TJ)	TJ1	TJ2	TJ3	TJ4	TJ5	TJ6	TJ7
Tempo de Retenção (min)	8-19,1	19,1-37	37-43,15	43,15-45,7	45,7-56,5	56,5-60,5	60,5-80

Os parâmetros do modo MRM como energias de transição e energia de colisão foram baseados e adaptados dos trabalhos de Cheng e colaboradores (2018), Mei (2018), Rangel e colaboradores (2017), Sefein, Nguyen e Philp (2017), Saito e colaboradores (2016), Li e colaboradores (2015), Mathur (2014), Bojesen-Koefoed, Nytoft e Dau (2009), Petersen, Nytoft, Nielsen (2004), Philp, Oung e Lewis (1988) e estão apresentados na Tabela 2 para a família dos triterpanos, na Tabela 3 para a família dos esteranos/ diaesteranos e na Tabela 4 para os diasteranos/ tetracíclicos poliprenoides (TPP). A definição do tempo das janelas (TJ) e seus respectivos tempos de retenção encontram-se na Tabela 5. O método cromatográfico permitiu a análise simultânea de 3 diferentes classes de hidrocarbonetos saturados.

3.7 TRATAMENTO DOS DADOS E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

Os dados obtidos a partir das injeções realizadas no CG-EM/EM foram processados empregando o *Agilent Technologies Mass Hunter Workstation Qualitative Analysis Software*. Os picos resultantes dos cromatogramas correspondentes aos biomarcadores saturados obtidos pelo modo SIM e MRM tiveram suas áreas integradas automaticamente para os cálculos das razões diagnósticas de interesse, tais como: GAM/H₃₀, H₃₅/H₃₄, H₂₉/H₃₀, H₂₈/H₂₉, TET₂₄/H₃₀, TET₂₄/TRI₂₆, TRI₂₃/TRI₂₄, TRI₁₉/TRI₂₃, Hop/Est, TRI/Hop, Ts/(Ts+Tm), S/(S+R)C₂₉Est, TRI₂₁/TRI₂₃, TRI₂₄/TRI₂₅, TRI₂₆/TRI₂₅, TRI₂₆/TRI₂₈, TR₂₃/H₃₀, H₂₈/TRI₂₃, Gam/TRI₂₃, H₂₉/C₂₉Ts, abb/(abb+aaa)C₂₉Est, %27Est, %28Est, %29Est, TPP₃₀, %DIA₂₇, %DIA₂₈, %DIA₂₉.

Para alcançar o objetivo proposto, os dados resultantes dos cálculos das razões diagnósticas de biomarcadores saturados foram submetidos ao tratamento estatístico, utilizando ferramentas de análises estatísticas multivariadas, através do programa *Statistica* para *Windows*, versão 7.0 da *Statsoft Inc*.

4 DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES SATURADOS EM EXTRATOS DE ROCHAS GERADORAS E PETRÓLEOS: COMPARAÇÃO ENTRE OS MODOS SIM E MRM DA CG-EM/EM ATRAVÉS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

RESUMO

Amostras de óleo e rochas geradoras foram analisadas por meio da técnica da cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo (CG-EM/EM) no modo Monitoramento de Reações Múltiplas (*Multiple Reaction Monitoring* MRM) a fim de otimizar um método de análise para os biomarcadores saturados das famílias dos triterpanos e esteranos. Além da otimização, o trabalho teve como objetivo comparar qualitativamente e através de ferramentas estatísticas o modo SIM e o modo MRM para avaliar as influências dos monitoramentos sobre as razões diagnósticas empregadas nas avaliações de paleoambientes deposicionais da rocha geradora. Para isso, foram analisadas 13 amostras provenientes de bacias sedimentares brasileiras (Bacias do Paraná, Parnaíba, Potiguar e Santos), englobando amostras de óleo bruto e rochas geradoras. Foram necessárias as etapas de extração da matéria orgânica solúvel das rochas e o fracionamento de todas as amostras para obtenção da fração dos hidrocarbonetos saturados. Os resultados das análises cromatográficas, no modo SIM e MRM, indicaram que houve diferenças entre os dois modos, com relação a resolução de determinados compostos, assim como na tendência de aumento ou diminuição de razões diagnósticas amplamente empregadas nas avaliações de paleoambiente deposicional. A técnica da CG-EM/EM no modo MRM mostrou-se mais precisa para o grupo de amostras de extratos de rochas do que para os óleos. Entretanto, para amostras com maior grau de maturidade, como os óleos estudados, recomenda-se o uso CG-EM/EM no modo MRM para família dos esteranos. As análises estatísticas aplicadas nesse estudo, a PCA e teste t, corroboraram com as análises qualitativas, posto que de modo geral as amostras se agruparam de acordo com seus paleoambientes deposicionais, mostrando diferenças entre os modos de monitoramento utilizados.

Palavras chave: biomarcadores, triterpanos, esteranos, CG-EM/EM, paleoambiente deposicional

ABSTRACT

Oil samples and source rocks in relation to the technique of chromatography in a multiple reaction monitor (MRM) in order to optimize a method of analysis for the saturated biomarkers of the triterpane and sterane families. In addition, the work had a qualitative and effective comparison of data monitoring types (SIM and MRM) to evaluate the influences of the monitoring on the evaluations in the evaluations of depositional paleoenvironments of the source rock. For this, 13 samples from sedimentary basin (Paraná, Parnaíba, Potiguar and Santos) were analyzed, including samples of crude oil and source rocks. The extraction of organic matter from the rocks and fractionation of all the samples to obtain the fraction of the saturated hydrocarbons. The results of the chromatographic analyses, in the SIM and MRM modes, showed that there were differences between the two modes, in relation to the resolution of certain compounds, as well as in the trend of increasing or decreasing diagnostic ratios widely employed in the

depositional paleoenvironment. The GC-MS/MS technique in the MRM mode was more accurate for the group of rock extract samples than for the oils. However, for samples with a higher degree of maturity, as in the case of the oils studied, it is recommended to use GC-MS/MS in the MRM mode for the sterane family. The statistical analyses applied in this study, such as PCA and t-test, corroborated with the qualitative analyzes, since in general the samples were grouped according to their depositional paleoenvironments, showing differences between the monitoring modes used.

Key words: Biomarkers, triterpanes, steranes, GC-MS/MS, environmental deposition

4.1 INTRODUÇÃO

O petróleo é uma mistura complexa composta predominantemente por hidrocarbonetos (TISSOT; WELTE, 1984). É um material fóssil resultante de transformações geoquímicas da matéria orgânica acumulada em rochas geradoras, juntamente com sedimentos, a qual foi submetida a condições adequadas de pressão e temperatura por milhares de anos (WANG et al., 1999; MILANI, 2001). Em baixas concentrações também fazem parte desta mistura um importante grupo, de alta complexidade, denominado de biomarcadores do petróleo, os quais são amplamente empregados na geoquímica do petróleo (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; SPEIGHT, 2014).

Do ponto de vista da geoquímica orgânica, os biomarcadores saturados, como os triterpanos e esteranos, são compostos muito importantes presentes em quase todos tipos de petróleo e nos extratos de rochas geradoras, pois são originados das membranas celulares de organismos procariontes e eucariontes, respectivamente (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). Esses biomarcadores têm sido amplamente investigados a nível molecular e usados em razões diagnósticas geoquímicas, com relativo sucesso para obter informações a respeito das condições do paleoambiente deposicional da rocha geradora, sobre a origem e *input* da matéria orgânica, o grau de maturidade térmica e o nível de biodegradação dos óleos (SIMONEIT, 2005; MULAGABAL et al., 2013; ZHANG et al., 2015).

A cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), no modo monitoramento seletivo de íons (SIM) é a técnica convencional utilizada para a análise dos biomarcadores do petróleo (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). Entretanto, esta técnica apresenta resolução insuficiente para determinados compostos, cujas áreas são usadas nos cálculos das razões diagnósticas, fazendo necessário o uso de

técnicas mais avançadas como a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas do tipo quadrupolo (CG-EM/EM), no modo MRM (PHILP et al., 1990; SONG et al., 2013).

Com o advento dos modernos métodos analíticos e de instrumentação, o desenvolvimento da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas do tipo quadrupolo (CG-EM/EM) propiciou que muitas dessas deficiências encontradas na separação analítica pudessem ser superadas (ADHIKARI; WONG; OVERTON, 2017; FARAJ et al., 2017). Diante disso, a proposta desse artigo foi otimizar os parâmetros de análise CG-EM/EM e avaliar sua aplicabilidade para a análise de biomarcadores saturados através de um estudo comparativo entre os dois métodos cromatográficos – SIM e MRM. Este estudo comparativo será avaliado por meio da análise estatística multivariada dos dados obtidos para as principais razões diagnósticas de biomarcadores saturados empregadas nos estudos geoquímicos de paleoambiente deposicional da rocha geradora, utilizando amostras de óleos e extratos de rochas geradoras de diversas bacias sedimentares brasileiras.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Seleção de amostras de rochas geradoras e de petróleo

Para investigação dos biomarcadores saturados das famílias dos triterpanos e esteranos, foram selecionadas no total de 13 amostras oriundas de bacias sedimentares brasileiras de diferentes períodos geológicos, em que 5 foram referentes a petróleo e 8 referentes a rochas geradoras (Quadro 2). As amostras provenientes de rochas geradoras foram selecionadas da base (Pn-1, Pn-2, Pb-1 e Pb-2) e do topo (Pn-3, Pn-4, Pb-3 e Pb-4) dos afloramentos das bacias do Panará e Parnaíba.

4.2.2 Preparo e extração das amostras de rochas geradoras

As amostras de rocha geradora foram trituradas e pulverizadas utilizando um moinho de esfera planetário (Retsch GmbH, modelo PM400) e, em seguida, peneiradas utilizando uma peneira com abertura de 80 mesh. Todo material empregado na moagem e pulverização das amostras foi previamente descontaminado com água, detergente e diclorometano.

Quadro 2 – Amostras de óleo ou rocha de diferentes bacias sedimentares brasileiras

BACIA	FORMAÇÃO	PERÍODO GEOLÓGICO	PALEOAMBIENTE DEPOSICIONAL	MATRIZ	AMOSTRA
Santos	Piçarras	Cretáceo	Lacustre salino	Óleo	OS
Potiguar	Alagamar	Cretáceo	Marinho evaporítico	Óleo	OP-1
Potiguar	Alagamar	Cretáceo	Marinho evaporítico	Óleo	OP-2
Potiguar	Pendência e Pescada	Cretáceo	Lacustre doce	Óleo	OP-3
Potiguar	Pendência e Pescada	Cretáceo	Lacustre doce	Óleo	OP-4
Paraná	Irati	Permiano	Marinho hipersalino	Rocha	Pn-1
Paraná	Irati	Permiano	Marinho hipersalino	Rocha	Pn-2
Paraná	Irati	Permiano	Marinho transicional	Rocha	Pn-3
Paraná	Irati	Permiano	Marinho transicional	Rocha	Pn-4
Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho transicional	Rocha	Pb-1
Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho transicional	Rocha	Pb-2
Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho	Rocha	Pb-3
Parnaíba	Pimenteiras	Devoniano	Marinho	Rocha	Pb-4

A matéria orgânica das amostras de rocha geradora foi obtida utilizando-se um sistema Dionex ASE 350, ThermoFisher Scientific. O processo de extração da matéria orgânica solúvel consistiu em células de extração de 100 mL na qual foram preenchidas com as amostras de rocha cujas massas variaram entre 10 g a 80 g, além de cerca de 20 % de terra de diatomáceas. O volume restante foi preenchido com terra de diatomáceas. As extrações foram baseadas no método EPA 3545A e suas condições foram: temperatura de 150 °C por 7 minutos, seguido por uma extração estática de 5 minutos, que se repetiu por dois ciclos. O solvente de extração utilizado foi o diclorometano (MERCK®), com volume de enxague de 75% do volume da célula, durante 60 s um fluxo de nitrogênio foi utilizado para purgar o solvente a uma pressão de 1500 psi. Os extratos foram coletados em frascos de 250 mL e transferidos para vials de 2 mL.

4.2.3 Fracionamento das amostras de petróleo bruto e dos extratos de rocha geradora

As amostras de petróleo bruto e de extratos de rochas geradora foram submetidos ao procedimento de fracionamento através da cromatografia líquida em coluna para obtenção da fração dos hidrocarbonetos saturados. As colunas de vidro foram empacotadas empregando como adsorvente a sílica gel (MERCK®) até uma altura de 12 cm da coluna, utilizando o *n*-hexano (MERCK®) como solvente. Foram depositados ao topo da coluna cerca de 20 mg das amostras e a fração de interesse pôde ser obtida

utilizando 30 mL de *n*-hexano (MERCK®). Os eluatos foram pré-concentrados em rotaevaporador e transferidos para vials de 2 mL.

Para retirar da fração dos hidrocarbonetos saturados lineares, deixando somente os saturados cíclicos de interesse, foi realizado a etapa de passagem por peneira molecular. Ao vial contendo a fração dos saturados, resultante da cromatografia em coluna, foram adicionados o ciclohexano e a peneira molecular 5Å (MERCK®), o qual foram mantidos *overnight*. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para o *insert*, com três lavagens. Após a evaporação do solvente, as amostras foram avolumadas com ciclohexano até concentração de 0,05 mg/μL.

4.2.4 Análise de biomarcadores saturados pelo CG-EM/EM

As análises das frações saturadas cíclicas foram realizadas em um cromatógrafo a gás Agilent 7890B acoplado a um espectrômetro de massas Agilent 7000D triplo quadrupolo equipado com uma coluna HP-5MS 5(%-fenil-metilpolisiloxano) de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm. O hélio foi usado como gás de arraste a um fluxo constante (1 mL.min⁻¹) e 1 μL da amostra foi injetada no modo splitless, com injetor a 300 °C. O forno de CG foi inicialmente ajustado para 55 ° C com um tempo de espera de 2 min e programado para 200 ° C a 20 °C.min⁻¹ durante 3 min e em seguida foi programado a 290 °C com uma rampa de 1,5 °C.min⁻¹ durante 8 min. O espectrômetro de massas foi operado com uma fonte de íons por ionização de elétrons (EI), com energia de ionização de 70 eV a 230 °C. E a linha de transferência foi de 205 °C.

Foram utilizados dois modos de aquisições do espectrômetro de massas, o monitoramento de íons selecionados (SIM), para monitoramento dos íons *m/z* 191 (triterpanos), *m/z* 217 (esteranos) e *m/z* 259 (poliprenoides tetracíclicos), identificados com base na ordem de eluição de trabalhos da literatura como Rangel e colaboradores (2017), Sefein, Nguyen e Philp (2017), Liu, Zhang e Li (2014), Petersen, Nytoft, Nielsen (2004), De Grande, Aquino-Neto, Melo (1993) e o monitoramento de reações múltiplas (MRM), com energias de transição e energia de colisão (Tabela 6, 7 e 8) adaptados dos trabalhos de Cheng e colaboradores (2018), Mei (2018), Rangel e colaboradores (2017), Sefein, Nguyen e Philp (2017), Saito e colaboradores (2016), Li e colaboradores (2015), Mathur (2014), Bojesen-Koefoed, Nytoft e Dau (2009), Petersen, Nytoft, Nielsen (2004), Philp, Oung e Lewis (1988) para a família dos triterpanos, família dos esteranos/diaesteranos e diasteranos/ tetracíclicos poliprenoides (TPP), respectivamente. A

definição do tempo das janelas (TJ) e seus respectivos tempos de retenção encontram-se na Tabela 9.

Tabela 6: Condições otimizadas para os compostos da família dos triterpanos

Código	Composto	MRM (<i>m/z</i>)		TJ	CID (eV)
TR19	C19 terpano tricíclico	262,3→	191,2	1	10
TR20	C20 terpano tricíclico	276,3→	191,2	1	10
TR21	C21 terpano tricíclico	290,3→	191,2	2	10
TR22	C22 terpano tricíclico	304,3→	191,2	2	10
TR23	C23 terpano tricíclico	318,3→	191,2	2	10
TR24	C24 terpano tricíclico	332,3→	191,2	2	10
TR25A	C25 terpano tricíclico (α)	346,4→	191,2	2	10
TR25B	C25 terpano tricíclico (β)	346,4→	191,2	2	10
TET24	C24 terpano tetracíclico	330,3→	191,2	2	10
TR26A	C26 terpano tricíclico (α)	360,4→	191,2	2	10
TR26B	C26 terpano tricíclico (β)	360,4→	191,2	2	10
TR28A	C28 terpano tricíclico (α)	388,4→	191,2	3	10
TR28B	C28 terpano tricíclico (β)	388,4→	191,2	3	10
TR29A	C29 terpano tricíclico (α)	402,4→	191,2	4	10
TR29B	C29 terpano tricíclico (β)	402,4→	191,2	4	10
Ts	18 α (H),21 β (H)-22,29,30-trisnorneohopano	370,4→	191,2	5	10
Tm	17 α (H),21 β (H)-22,29,30-trisnorhopano	370,4→	191,2	5	10
TR30A	C30 terpano tricíclico (α)	416,4→	191,2	5	10
TR30B	C30 terpano tricíclico (β)	416,4→	191,2	5	10
H28	17 α (H),18 α (H),21 β (H)-28,30-bisnorhopano	384,4→	191,2	5	10
H29	17 α (H),18 α (H),21 β (H)-norhopano	398,4→	191,2	5	10
C29Ts	18 α (H),21 β (H)30 norneohopano	398,4→	191,2	5	10
DH30	17 α (H)diahopano	412,4→	191,2	5	10
M29	17 α (H),21 β (H)-30-norhopano (normoretano)	398,4→	191,2	5	10
H30	17 α (H),21 β (H)-hopano	412,4→	191,2	6	10
M30	17 β (H),21 α (H)-hopano (moretano)	412,4→	191,2	6	10
H31S	17 α (H),21 β (H)-30-homohopano(22S)	426,4→	191,2	7	10
H31R	17 α (H),21 β (H)-30-homohopano(22R)	426,4→	191,2	7	10
GAM	Gamacerano	412,4→	191,2	7	10
H32S	17 α (H),21 β (H)-30,31-bishomohopano(22S)	440,4→	191,2	7	10
H32R	17 α (H),21 β (H)-30,31-bishomohopano(22R)	440,4→	191,2	7	10
H33S	17 α (H),21 β (H)-30,31,32-trishomohopano(22S)	454,4→	191,2	7	10
H33R	17 α (H),21 β (H)-30,31,32-trishomohopano(22R)	454,4→	191,2	7	10
H34S	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33-tetrakishomohopano(22S)	468,5→	191,2	7	10
H34R	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33-tetrakishomohopano(22R)	468,5→	191,2	7	10
H35S	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33,34-pentakishomohopano(22S)	482,5→	191,2	7	10
H35R	17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33,34-pentakishomohopano(22R)	482,5→	191,2	7	10

Tabela 7: Condições otimizadas para os compostos da família dos esteranos

Código	Composto	Precursor	Produto	TJ	CID (eV)
S20	C20 5 α (H),14 α (H),17 α (H)-esterano	274,3 \rightarrow	217,2	1	10
S21	C21 5 α (H),14 β (H),17 β (H)-esterano	288,3 \rightarrow	217,2	2	10
S22	C22 5 α (H),14 β (H),17 β (H)-esterano	302,3 \rightarrow	217,2	2	10
DIA27S	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA27R	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA27 SS	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA27RR	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	3	10
C27S	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-colestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	4	10
C27BBR	5 α (H),14 β (H),17 β (H)-colestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	4	10
C27BBS	5 α (H),14 β (H),17 β (H)-colestano (20S)	372,4 \rightarrow	217,2	4	10
C27R	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-colestano (20R)	372,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA28S	13 β (H),17 α (H)-diaergostano (20S)	386,4 \rightarrow	217,2	3	10
DIA28R	13 β (H),17 α (H)-diaergostano (20R)	386,4 \rightarrow	217,2	4	10
DIA28SS	13 α (H),17 β (H)-diaergostano (20S)	386,4 \rightarrow	217,2	4	10
DIA28RR	13 α (H),17 β (H)-diaergostano (20R)	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28S	C28 20S-5 α (H), 14 α (H), 17 α (H)-ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28BBR	C28 20R-5 α (H), 14 β (H), 17 β (H)-ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28BBS	C28 20S-5 α (H), 14 β (H),17 β (H)-ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
C28R	C28 20R-5 α (H), 14 α (H), 17 α (H)-ergostano	386,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA29S	13 β (H),17 α (H)-diaestigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	4	10
DIA29R	13 β (H),17 α (H)-diaestigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA29SS	13 α (H),17 β (H)-diaestigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
DIA29RR	13 α (H),17 β (H)-diaestigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29S	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-estigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29BBR	5 α (H),14 β (H),17 β (H)-estigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29BBS	5 α (H),14 β (H),17 β (H)-estigmastano (20S)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10
C29R	5 α (H),14 α (H),17 α (H)-estigmastano (20R)	400,4 \rightarrow	217,2	5	10

Tabela 8: Condições otimizadas para os compostos da família dos diasteranos e TPP

Código	Composto	Precursor	Produto	TJ	CID (eV)
DIA 27S	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
DIA 27R	13 β (H),17 α (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
DIA27 SS	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20S)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
DIA 27RR	13 α (H),17 β (H)-diacolestano (20R)	372,4 \rightarrow	259,3	3	10
C30 TPP	Tetracíclico poliprenoide	414,4 \rightarrow	259,3	5	10

Tabela 9 - Tempo de retenção para cada tempo de janela na análise MRM

Tempo da Janela (TJ)	TJ1	TJ2	TJ3	TJ4	TJ5	TJ6	TJ7
Tempo de Retenção (min)	8-19,1	19,1-37	37-43,15	43,15-45,7	45,7-56,5	56,5-60,5	60,5-80

Vinte nove transições MRM para 67 compostos analisados foram divididos em 7 janelas, dependendo dos tempos de retenção de cada composto analisado. O tempo Dwell para cada transição foi 50 ms e as energias de colisão da célula de colisão foi 10 eV (Tabelas 6, 7, 8).

Os compostos resultantes dos cromatogramas correspondentes aos biomarcadores saturados obtidos pelo modo SIM e MRM tiveram suas áreas integradas para os cálculos das razões diagnósticas de interesse.

4.2.5 Tratamento dos dados e identificação dos compostos

Os dados obtidos a partir das análises realizadas no CG-EM/EM foram processados empregando o *Agilent Technologies Mass Hunter Workstation Qualitative Analysis Software*. Os compostos correspondentes aos biomarcadores saturados obtidos pelo modo SIM e MRM tiveram suas áreas integradas automaticamente para os cálculos das razões diagnósticas de interesse, como: GAM/H₃₀, H₃₅/H₃₄, H₂₉/H₃₀, H₂₈/H₂₉, TET₂₄/H₃₀, TET₂₄/TRI₂₆, TRI₂₃/TRI₂₄, TRI₁₉/TRI₂₃, Hop/Est, TRI/Hop, Ts/(Ts+Tm), S/(S+R)C₂₉Est, TRI₂₁/TRI₂₃, TRI₂₄/TRI₂₅, TRI₂₆/TRI₂₅, TRI₂₆/TRI₂₈, TR₂₃/H₃₀, H₂₈/TRI₂₃, Gam/TRI₂₃, H₂₉/C₂₉Ts, abb/(abb+aaa)C₂₉Est, %27Est, %28Est, %29Est, TPP₃₀, %DIA₂₇, %DIA₂₈, %DIA₂₉.

Os dados resultantes dos cálculos das razões diagnósticas de biomarcadores saturados foram submetidos ao tratamento estatístico, utilizando ferramentas de análises estatísticas multivariadas, através do programa *Statistica* para *Windows*, versão 7.0 da *Statsoft Inc*.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Toda a parte da otimização do método da CG-EM/EM para a análise dos biomarcadores saturados das famílias dos triterpanos, esteranos, diaesteranos e TPP, para o monitoramento no modo MRM, foi realizada, conforme mostrado na Seção 4.2.5, utilizando a amostra de óleo da bacia Potiguar (OP-3) e, em seguida, foi adotada para todos os tipos de amostras empregadas nesse trabalho.

Devido ao elevado número de resultados gerados pelos modos SIM e MRM, foi necessário empregar um tratamento estatístico a fim de que os resultados fossem

apresentados e discutidos com maior clareza. Os resultados dessas análises estão descritos, inicialmente de forma qualitativa, analisando os cromatogramas e suas razões diagnósticas, e, posteriormente, todos os resultados foram analisados de forma conjunta através de ferramentas estatísticas.

5.3.1 Amostras de extratos de rochas geradoras

As amostras cujas matrizes foram de rochas geradoras foram subdivididas pelas suas referentes bacias sedimentares, Bacia do Paraná e Bacia do Parnaíba, as quais englobam as Fm. Irati e Fm. Pimenteiras, respectivamente. Essas bacias são do tipo intracratônicas e estudos anteriores de Zambrano (2015) e Martins (2018) mostraram que ambos afloramentos não atingiram o estágio de evolução térmica suficiente e a matéria orgânica presente nas rochas encontra-se imatura.

A Fm. Irati faz parte da Supersequência Gondwana I, uma entre as seis superseqüências que compõem a Bacia do Paraná, na qual são representadas por sucessões sedimentares que definem ciclos transgressivo-regressivos ligados a oscilações do nível relativo do mar no Paleozoico (MILANI et al., 2007; REIS et al., 2018). Essa Supersequência corresponde à sedimentação diretamente ligada ao degelo da calota polar, na sua porção mais inferior, seguido por um ciclo sedimentar que alcança condições de máximas inundações, finalizando-se com sistemas deposicionais continentais. Dessa forma, a evolução dessa bacia é caracterizada por um evento singular que ocasionou o desenvolvimento de um contexto ambiental hipersalino na Fm. Irati (MILANI et al., 2007).

Martins (2018) analisou as condições ambientais nas quais foram depositados os sedimentos ricos em matéria orgânica da Fm. Irati, nas mesmas amostras utilizadas no presente estudo. O querogênio para as amostras foi classificado como sendo do tipo I para aquelas localizadas na base do afloramento, mudando para o tipo IV nas amostras localizadas no topo do afloramento. Sugeriu-se que o paleoambiente deposicional evoluiu de marinho, na base do afloramento, para marinho com evidência de entrada de material orgânico continental, constituído de fitoclastos para as amostras do topo do afloramento. As razões diagnósticas para biomarcadores para este afloramento, sugeriram querogênio derivado de matéria orgânica marinha (plancton/algas), depositada em ambiente marinho hipersalino anóxico a subóxico, na base, e principalmente de matéria orgânica terrestre

com aporte de organismos de água doce/salobra, depositados em ambiente óxico no topo do afloramento.

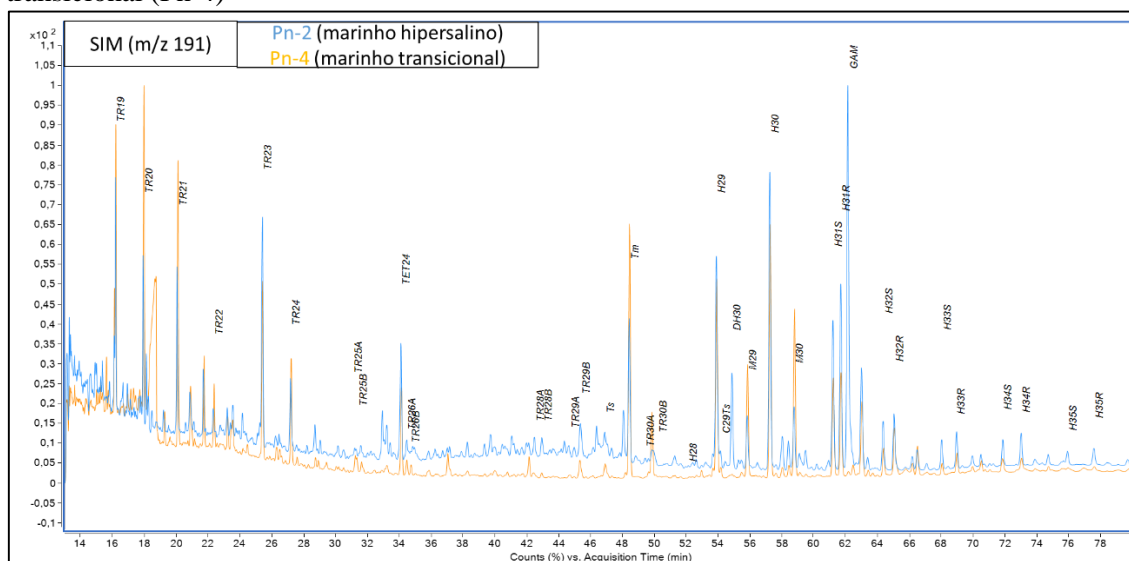
O outro grupo de amostras estudadas no presente trabalho foi coletado da base (Pb-1 e Pb-2) e do topo (Pb-3 e Pb-4) do afloramento da Fm. Pimenteiras, as quais são provenientes da Bacia do Parnaíba que faz parte da sequência Mesodevoniana-Eocarbonífera (VAZ et al., 2007). Este afloramento é um exemplo da inumdação marinha na Bacia do Parnaíba ocorrido no Devoniano, cujo evento foi evidenciado por Zambrano (2015), que por meio do seu trabalho apontou diferenças significativas da matéria orgânica que constitui a base e o topo do afloramento empregado no presente estudo. Zambrano (2015) concluiu que houve predomínio do querogênio do tipo III, com indícios de mistura entre matéria orgânica terrestre e marinha (tipo II/III). Nas amostras da base do afloramento foi sugerida a existência de matéria orgânica mista, com predominância terrestre, mas com aporte de organismo de água doce/salobra, depositados sob condição sub-óxica a óxica. Nas amostras de topo foi identificada matéria orgânica mista com aporte terrestre, mas com contribuição de organismos marinhos (algas).

A seguir são apresentadas as diferenças qualitativas evidenciadas através dos resultados cromatográficos empregando-se os dois modos de monitoramento (SIM e MRM) para as amostras representativas dos paleoambientes de cada bacia.

5.3.1.1 Bacia do Paraná

As amostras da base (Pn-1 e Pn-2) e do topo (Pn-3 e Pn-4) foram analisadas através de dois modos de operação do CG-EM/EM e todos os cromatogramas encontram-se no Apêndice A e B. Abaixo foi mostrado os cromatogramas das amostras representativas, no modo SIM (Figura 4) de cada ambiente: marinho hipersalino (Pn-2) referente a base do afloramento e marinho transicional (Pn-4) para o topo. Notou-se pelos cromatogramas sobrepostos as diferenças entre as distribuições dos picos nas amostras devido a mudança dos seus respectivos paleoambientes no qual suas rochas geradoras foram depositadas. Além disso, observou-se que para a amostra Pn-2 houve um aumento na linha de base na região dos tricíclicos que não foi observada para a amostra Pn-4.

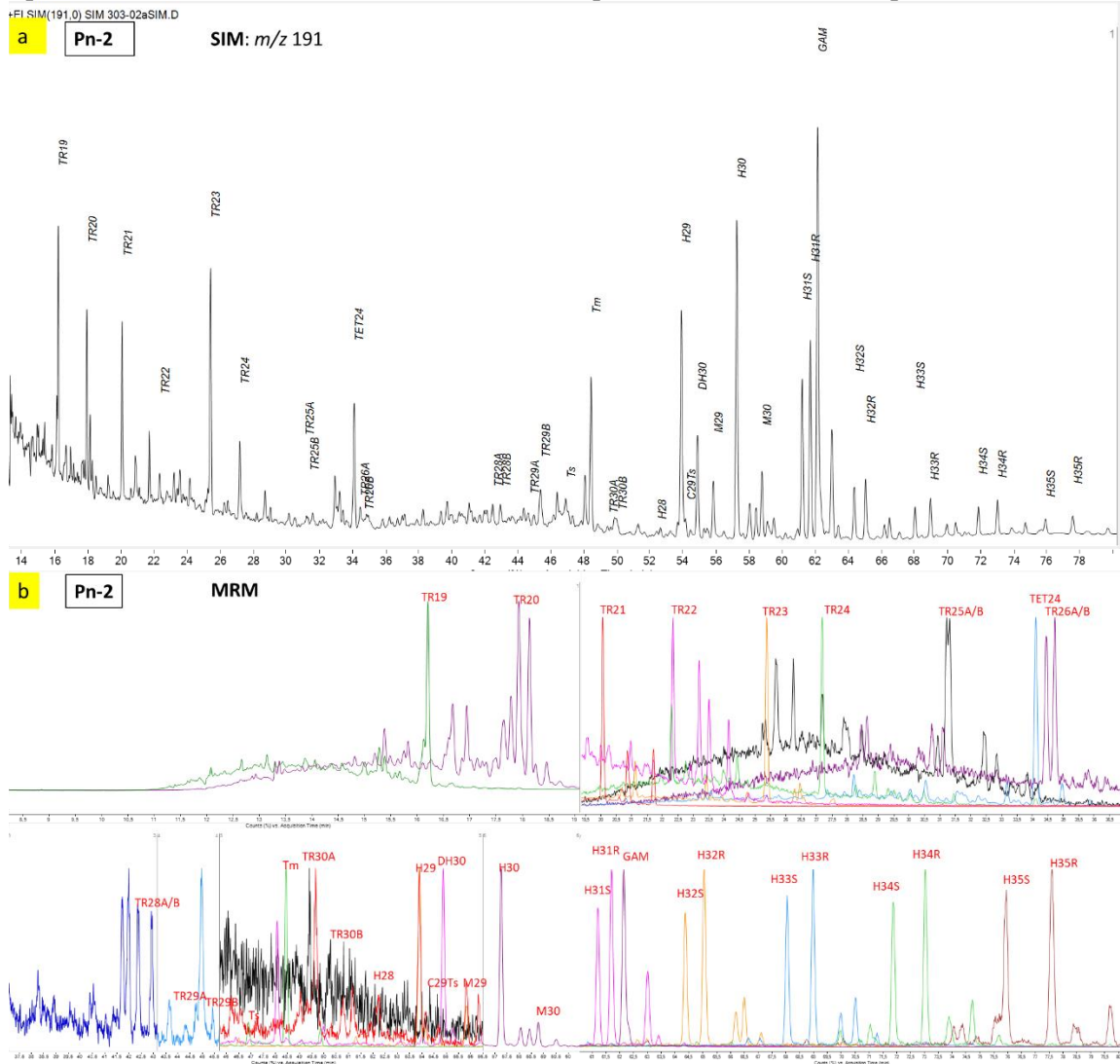
Figura 1 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) representativo da Baía do Paraná característico de paleoambiente marinho hipersalino (Pn-2) e marinho transicional (Pn-4)



Para análise dos biomarcadores da família dos triterpanos comumente se utiliza o modo SIM pelo monitoramento do íon m/z 191 (AQUINO NETO et al, 1982; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005), e, neste modo os compostos tendem a ser melhores resolvidos do que os esteranos, diaesteranos e TPP. Entretanto, analisando os cromatogramas representativos da base e do topo desse afloramento (Figura 4) é possível observar compostos (picos) mal definidos, com baixa resolução cromatográfica, possivelmente como resultado da ocorrência de coeluições (entre isômeros), baixa abundância do composto na amostra ou ainda a limitação do modo de operação SIM. Os compostos TR19, TR23, TR25A/B, TR26A/B, TR28A/B, TR29A/B e TR30A/B apresentaram essas características no cromatograma.

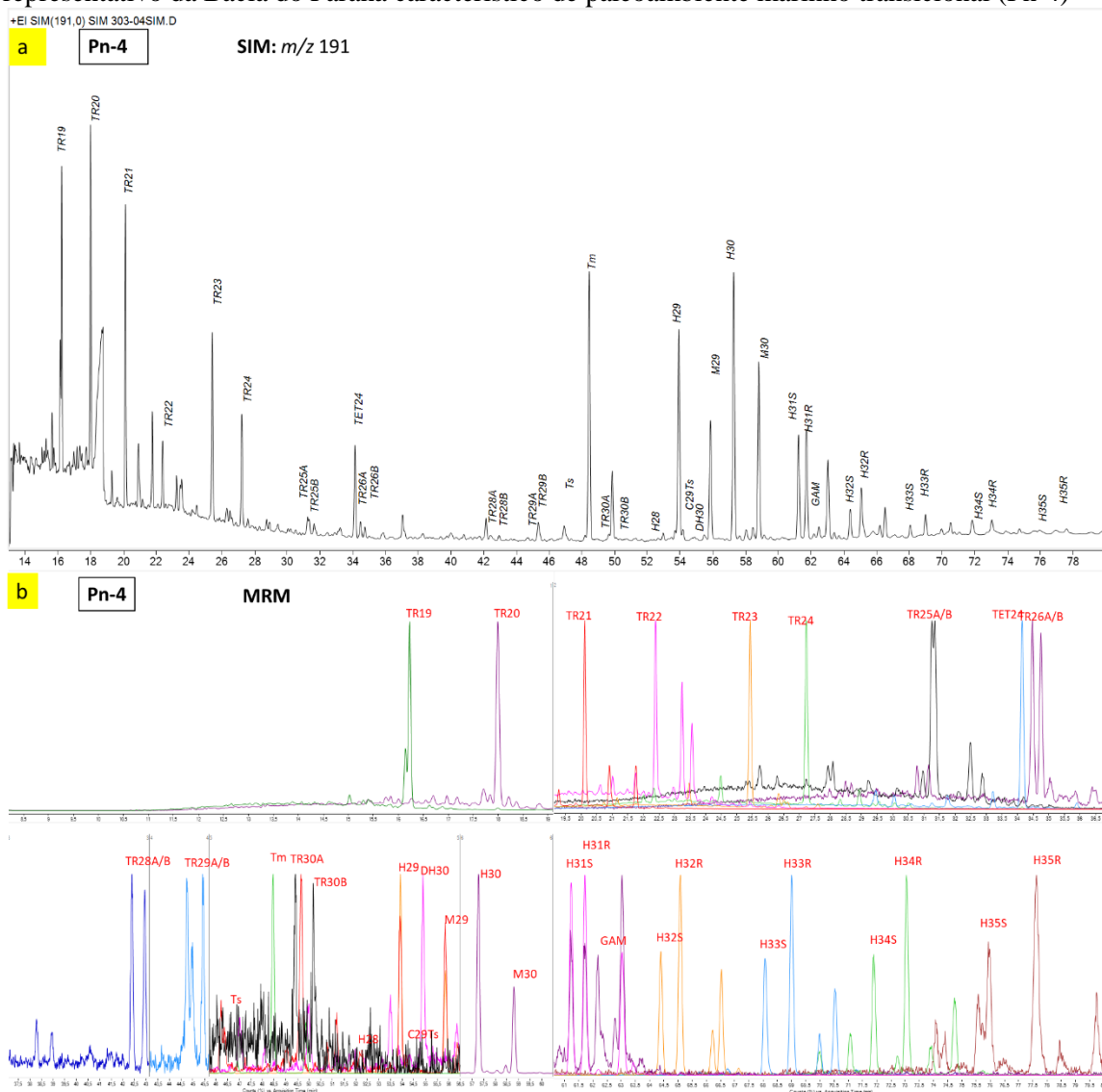
As Figuras 5 e 6 apresentam os cromatogramas separadamente para cada paleoambiente estudado, fazendo um comparativo entre aos dois modos de monitoramento da CG-EM/EM: SIM (a) e MRM (b).

Figura 2 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) (a) e MRM (b) representativo da Bacia do Paraná característico de paleoambiente marinho hipersalino (Pn-2)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3→191,2); TR20 (m/z 276,3→191,2); TR21 (m/z 290,3→191,2); TR22 (m/z 304,3→191,2); TR23 (m/z 318,3→191,2); TR24 (m/z 332,3→191,2); TR25A/B (m/z 346,4→191,2); TET24 (m/z 330,3→191,2); TR26A/B (m/z 360,4→191,2); TR28A/B (m/z 388,4→191,2); TR29A/B (m/z 402,4→191,2); Ts/Tm (m/z 370,4→191,2); TR30A/B (m/z 416,4→191,2) H28 (m/z 384,4→191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4→191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4→191,2); H31(S+R) (m/z 426,4→191,2); H32(S+R) (m/z 440,4→191,2); H33(S+R) (m/z 454,4→191,2); H34(S+R) (m/z 468,5→191,2); H35(S+R) (m/z 482,5→191,2).

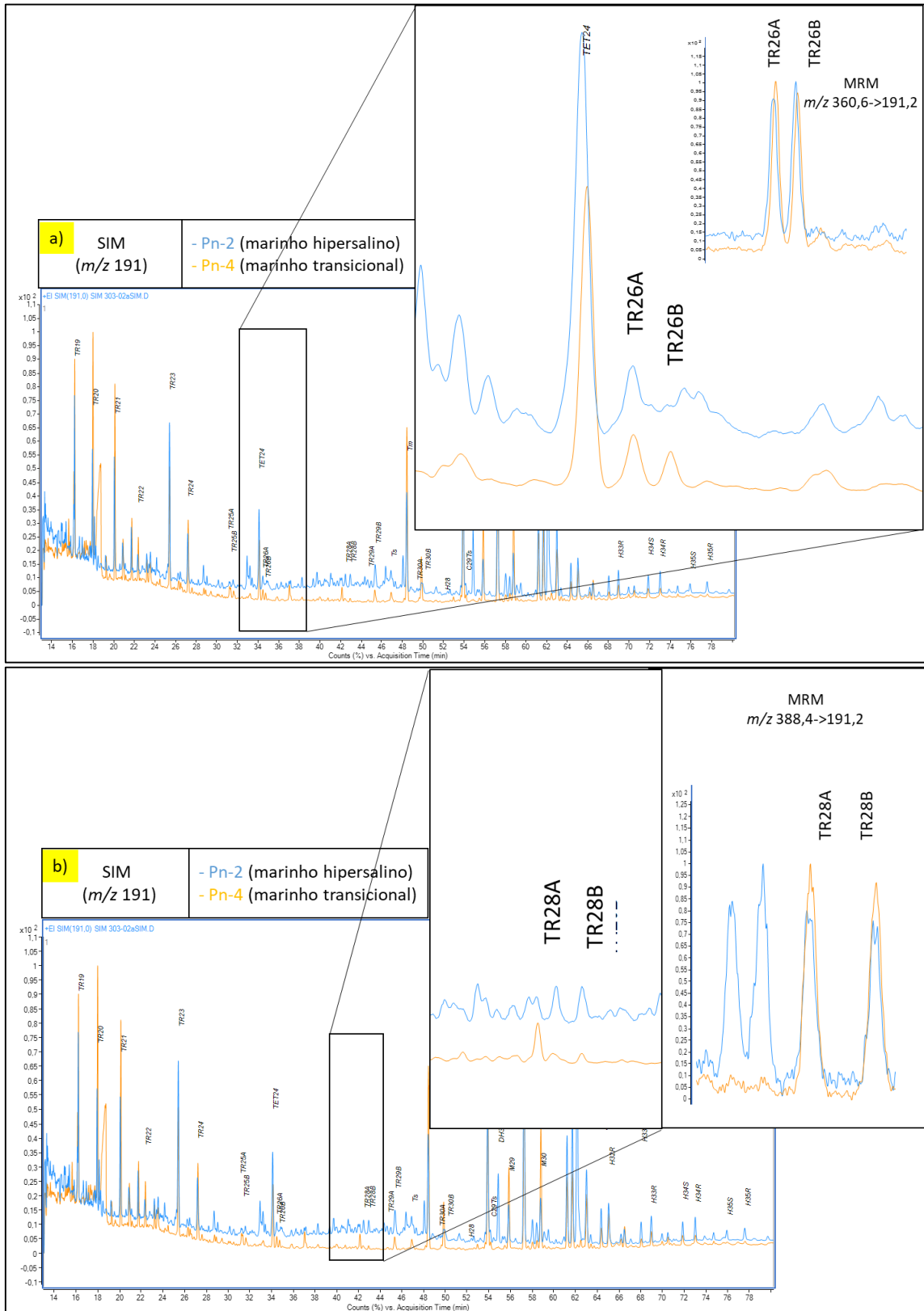
Figura 3 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) (a) e MRM (b) representativo da Bacia do Paraná característico de paleoambiente marinho transicional (Pn-4)

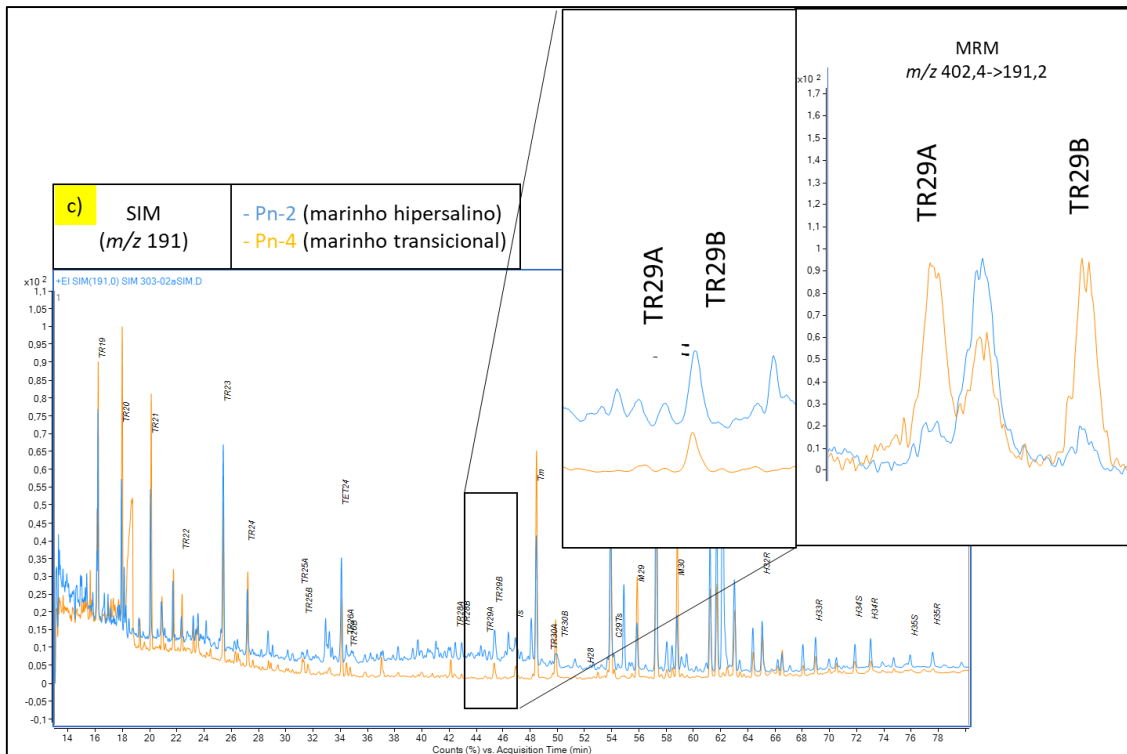


Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3 \rightarrow 191,2); TR20 (m/z 276,3 \rightarrow 191,2); TR21 (m/z 290,3 \rightarrow 191,2); TR22 (m/z 304,3 \rightarrow 191,2); TR23 (m/z 318,3 \rightarrow 191,2); TR24 (m/z 332,3 \rightarrow 191,2); TR25A/B (m/z 346,4 \rightarrow 191,2); TET24 (m/z 330,3 \rightarrow 191,2); TR26A/B (m/z 360,4 \rightarrow 191,2); TR28A/B (m/z 388,4 \rightarrow 191,2); TR29A/B (m/z 402,4 \rightarrow 191,2); Ts/Tm (m/z 370,4 \rightarrow 191,2); TR30A/B (m/z 416,4 \rightarrow 191,2) H28 (m/z 384,4 \rightarrow 191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4 \rightarrow 191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4 \rightarrow 191,2); H31(S+R) (m/z 426,4 \rightarrow 191,2); H32(S+R) (m/z 440,4 \rightarrow 191,2); H33(S+R) (m/z 454,4 \rightarrow 191,2); H34(S+R) (m/z 468,5 \rightarrow 191,2); H35(S+R) (m/z 482,5 \rightarrow 191,2).

Os terpanos tricíclicos TR26A/B desmonstraram uma má separação, quando analisados no modo SIM, principalmente, nas amostras da base Pn-2 (Figura 7a). Ao comparar com o modo MRM, observa-se picos mais definidos e separados, indicando a maior seletividade do método. Essa dificuldade também foi percebida para os compostos TR28A/B (Figura 7b) e TR29A/B (Figura 7 c).

Figura 4 - Comparativo entre os dois modos de monitoramento, SIM e MRM, para os compostos terpanos tricíclicos TR26A/B (a), TR28A/B (b) e TR29A/B (c) para amostras representativas da Baía do Paraná





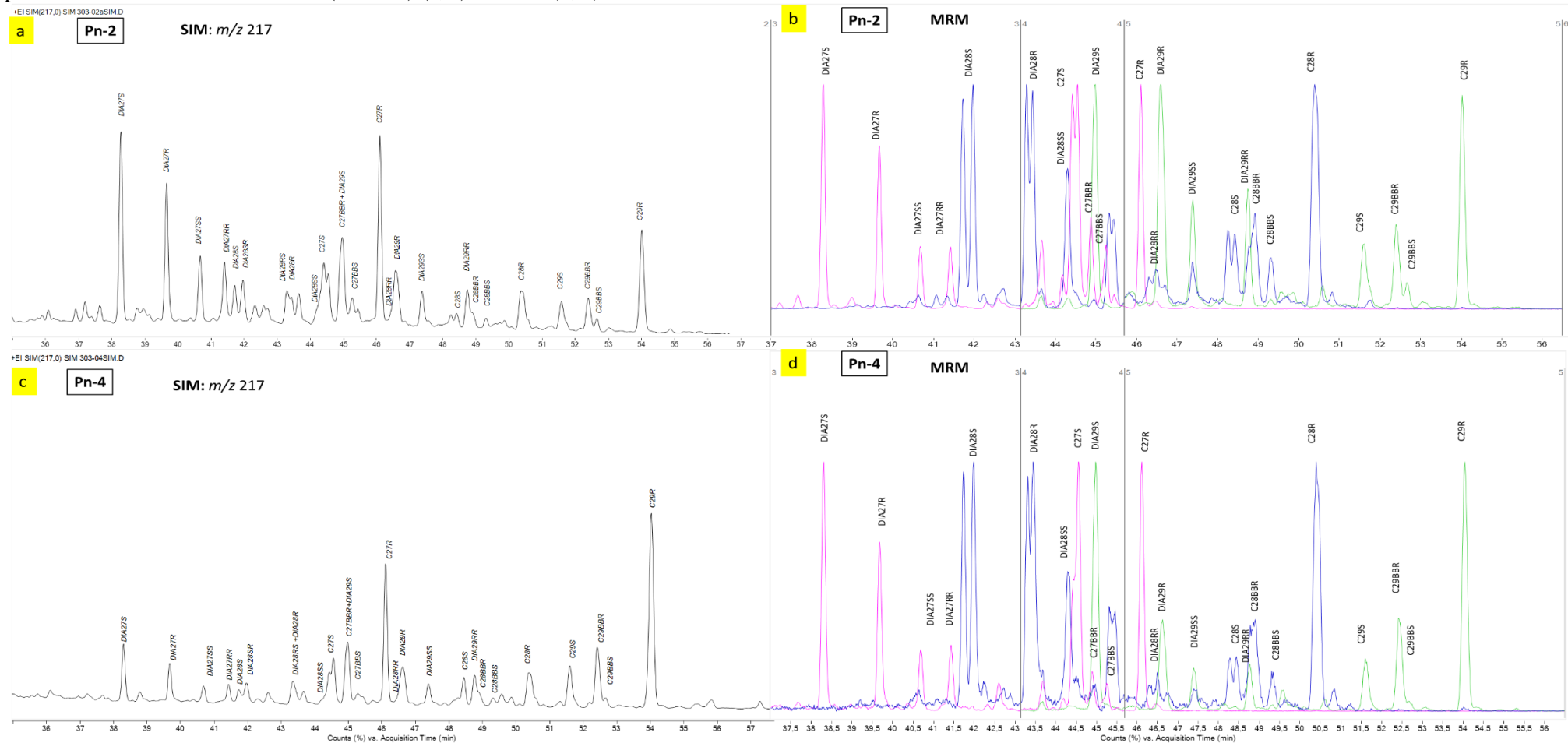
Comparativamente, o modo MRM apresentou, para as mesmas amostras, picos com melhor resolução, mesmo para aqueles compostos que se encontram em baixas concentrações nas amostras, como o caso dos terpanos tricíclicos. Isso pode ser explicado pelas características do modo de operação MRM, onde é possível fragmentar o íon característico de um determinado analito e obter o seu íon produto. Este fato permite uma maior seletividade quando comparado ao modo SIM, em que apenas o íon característico do composto é considerado. Dessa forma, se mais de um composto ou classe de compostos apresenta o mesmo íon principal, o modo SIM é incapaz de diferenciá-los (PETERS; WALTER; MOLDOWAN, 2005; ADHIKARI; WONG; OVERTON, 2017).

Em relação a obtenção dos compostos pertencentes as famílias dos esteranos, diaesteranos e TPP pelo modo SIM, o monitoramento usualmente ocorre pelos íons m/z 217 e m/z 259 (PETERS; WALTER; MOLDOWAN, 2005; COIMBRA, 2006; PETERS et al., 2014) e pelos cromatogramas gerados (Figura 8a e 8c) observou-se coeluições entre os compostos DIA₂₈SS e o C₂₇S, C₂₇BBR e o DIA₂₉S, o DIA₂₈SS e o C₂₇S, DIA₂₈RR e o DIA₂₉R, DIA₂₉RR e o C₂₈BBR. Através do modo MRM foi possível obter esses compostos de maneira separada, conferindo uma maior confiabilidade nas medidas de áreas integradas, consequentemente, nas razões diagnósticas.

Novamente, pode-se observar a vantagem do uso do modo MRM. Diferente do modo SIM, onde o íon característico é fragmentado apenas uma vez, com energia de 70

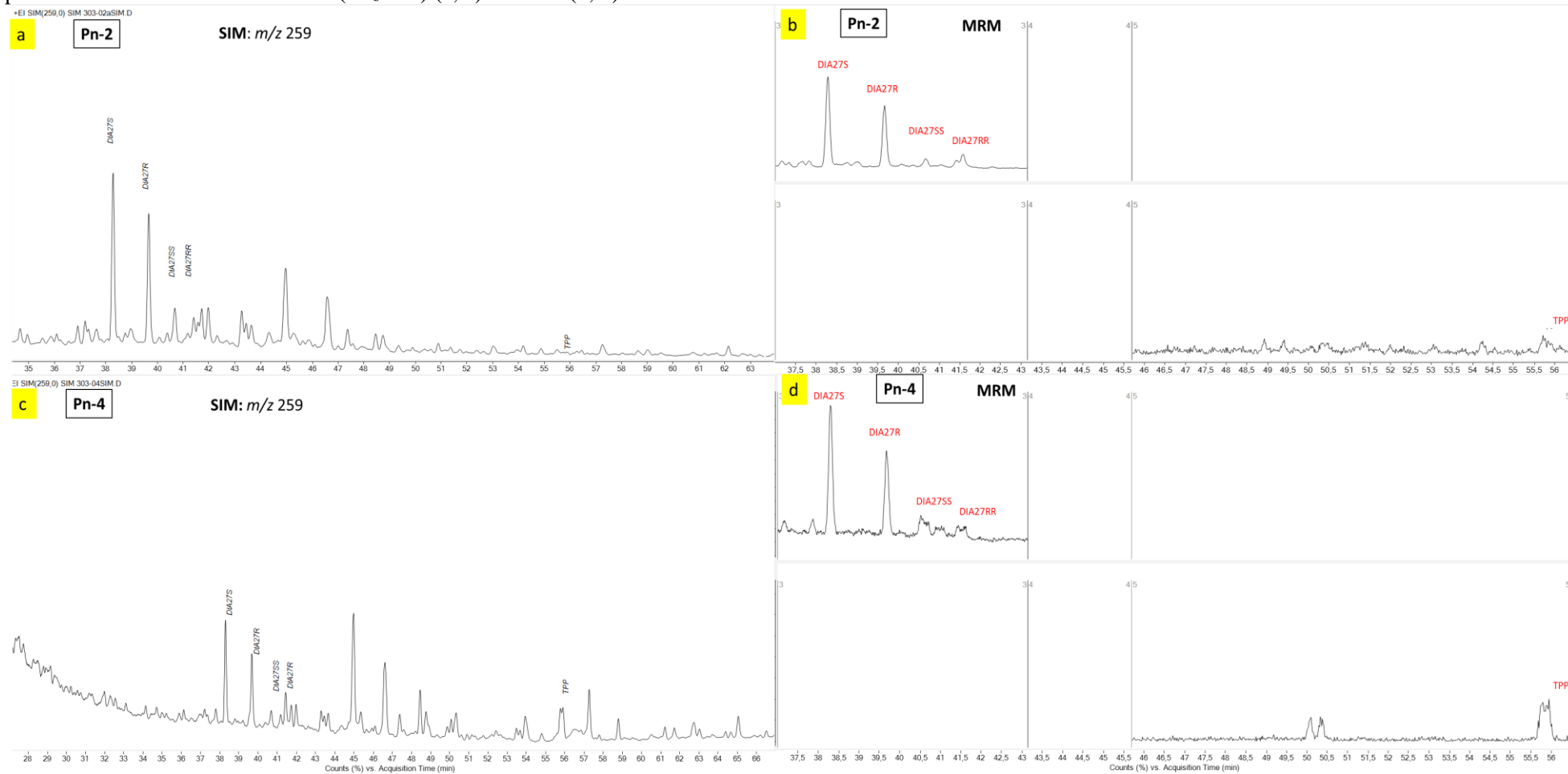
eV, no modo MRM, este mesmo íon sofre uma nova fragmentação, com energias específicas, as quais após definidas, são usadas para aumentar a seletividade e a sensibilidade do método e impedir coeluições, uma vez que um íon característico, ao ser fragmentado, irá produzir um íon produto específico do composto em análise. Essas características do modo de operação MRM podem tanto servir para evitar coeluições, quando elas existirem, quanto para aumentar a sensibilidade do método de análise (ADHIKARI; WONG; OVERTON, 2017). Por esse motivo, conforme observado na Figura 8, algumas razões ora aumentam, ora diminuem ao serem comparadas.

Figura 5 - Cromatogramas representativos da Bacia do Paraná característico de paleoambiente marinho hipersalino (Pn-2) e marinho transicional (Pn-4), obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 217) (a, c) e MRM (b, d)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do esteranos DIA27S/ DIA27R/ DIA27SS/ DIA27RR/ C27S/ C27BBR/ C27BBS/ C27R (m/z 372,4→217,2); DIA28S/ DIA28R/ DIA28SS/ DIA28RR/ C28S/ C28BBR/ C28BBS/ C28R (m/z 386,4→217,2); DIA29S/ DIA29R/ DIA29SS/ DIA29RR/ C29S/ C29BBR/ C29BBS/ C29R (m/z 400,4→217,2).

Figura 6 - Cromatogramas representativos da Bacia do Paraná característico de paleoambiente marinho hipersalino (Pn-2) e marinho transicional (Pn-4), obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 259) (a, c) e MRM (b, d)

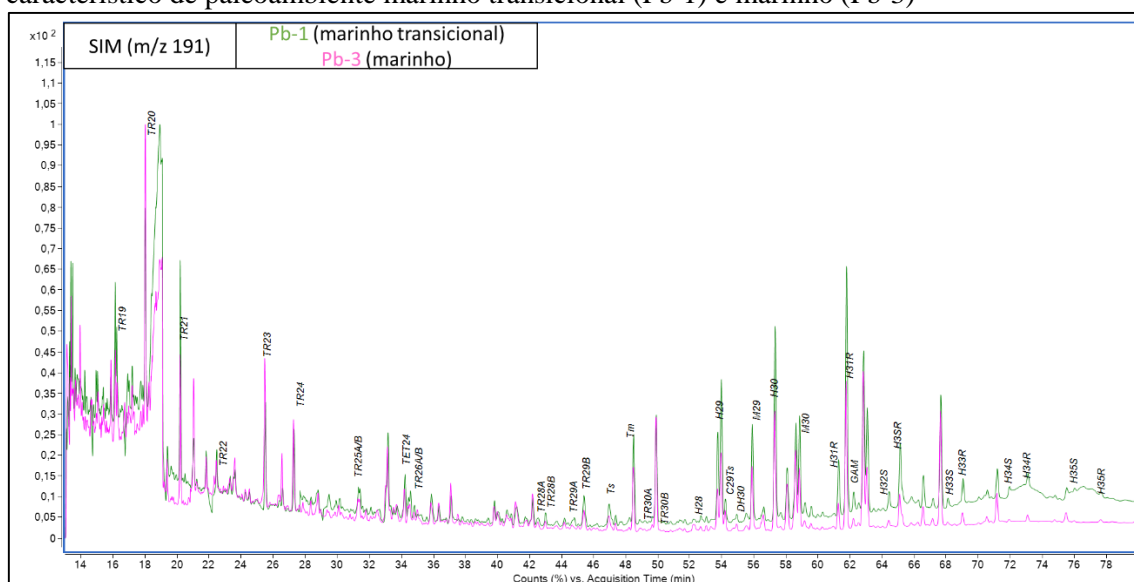


Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do esteranos DIA27S/ DIA27R/ DIA27SS/ DIA27RR (m/z 372,4→259,3)/ TPP (m/z 414,4→259,3).

5.3.1.2 Bacia do Parnaíba

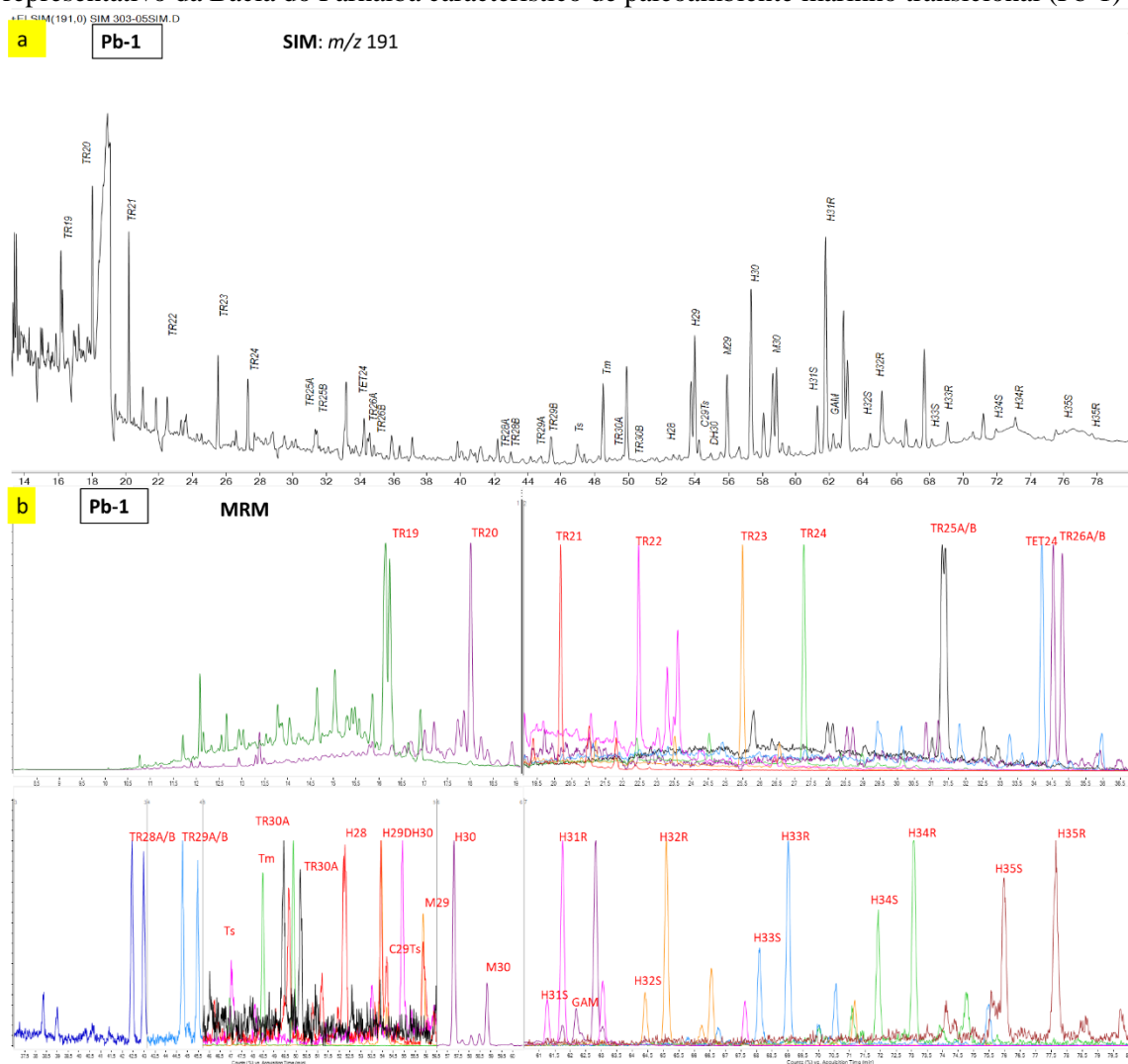
As amostras da base (Pb-1 e Pb-2) e do topo (Pb-3 e Pb-4) foram analisadas através de dois modos de operação do CG-EM/EM e todos os cromatogramas encontram-se no Apêndice A e B. Abaixo foi mostrado os cromatogramas das amostras representativas, no modo SIM (Figura 10) de cada ambiente: marinho transicional (Pb-1) referente a base do afloramento e marinho (Pb-3) para o topo. Com a variação do paleoambiente deposicional das amostras, observou-se através da sobreposição dos cromatogramas de massas diferenças na região dos tricíclicos, sendo mais proeminentes nos homohopanos, apresentando um aumento da linha de base, conseqüentemente, uma má resolução nesses picos para a amostra da base Pb-1.

Figura 7 - Cromatogramas obtidos pelo modo SIM (m/z 191) representativo da Bacia do Parnaíba característico de paleoambiente marinho transicional (Pb-1) e marinho (Pb-3)



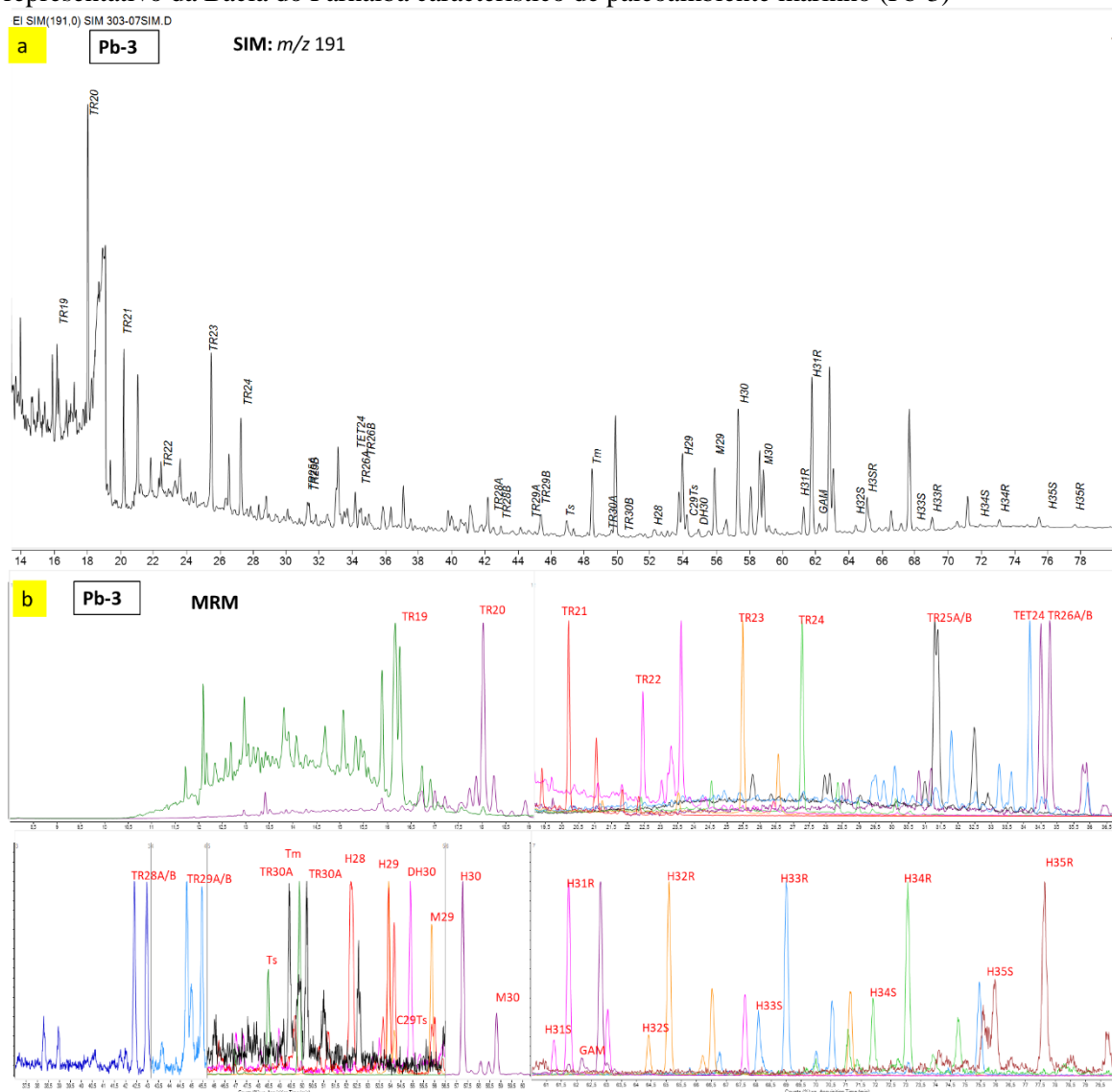
A análise qualitativa de duas amostras, representativas da Bacia do Parnaíba, através dos seus cromatogramas de massas no modo SIM, pelo monitoramento do íon m/z 191, foi comparada com a análise obtida pelo modo MRM (Figura 11 e 12).

Figura 8 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) (a) e MRM (b) representativo da Bacia do Parnaíba característico de paleoambiente marinho transicional (Pb-1)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3 \rightarrow 191,2); TR20 (m/z 276,3 \rightarrow 191,2); TR21 (m/z 290,3 \rightarrow 191,2); TR22 (m/z 304,3 \rightarrow 191,2); TR23 (m/z 318,3 \rightarrow 191,2); TR24 (m/z 332,3 \rightarrow 191,2); TR25A/B (m/z 346,4 \rightarrow 191,2); TET24 (m/z 330,3 \rightarrow 191,2); TR26A/B (m/z 360,4 \rightarrow 191,2); TR28A/B (m/z 388,4 \rightarrow 191,2); TR29A/B (m/z 402,4 \rightarrow 191,2); Ts/Tm (m/z 370,4 \rightarrow 191,2); TR30A/B (m/z 416,4 \rightarrow 191,2) H28 (m/z 384,4 \rightarrow 191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4 \rightarrow 191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4 \rightarrow 191,2); H31(S+R) (m/z 426,4 \rightarrow 191,2); H32(S+R) (m/z 440,4 \rightarrow 191,2); H33(S+R) (m/z 454,4 \rightarrow 191,2); H34(S+R) (m/z 468,5 \rightarrow 191,2); H35(S+R) (m/z 482,5 \rightarrow 191,2).

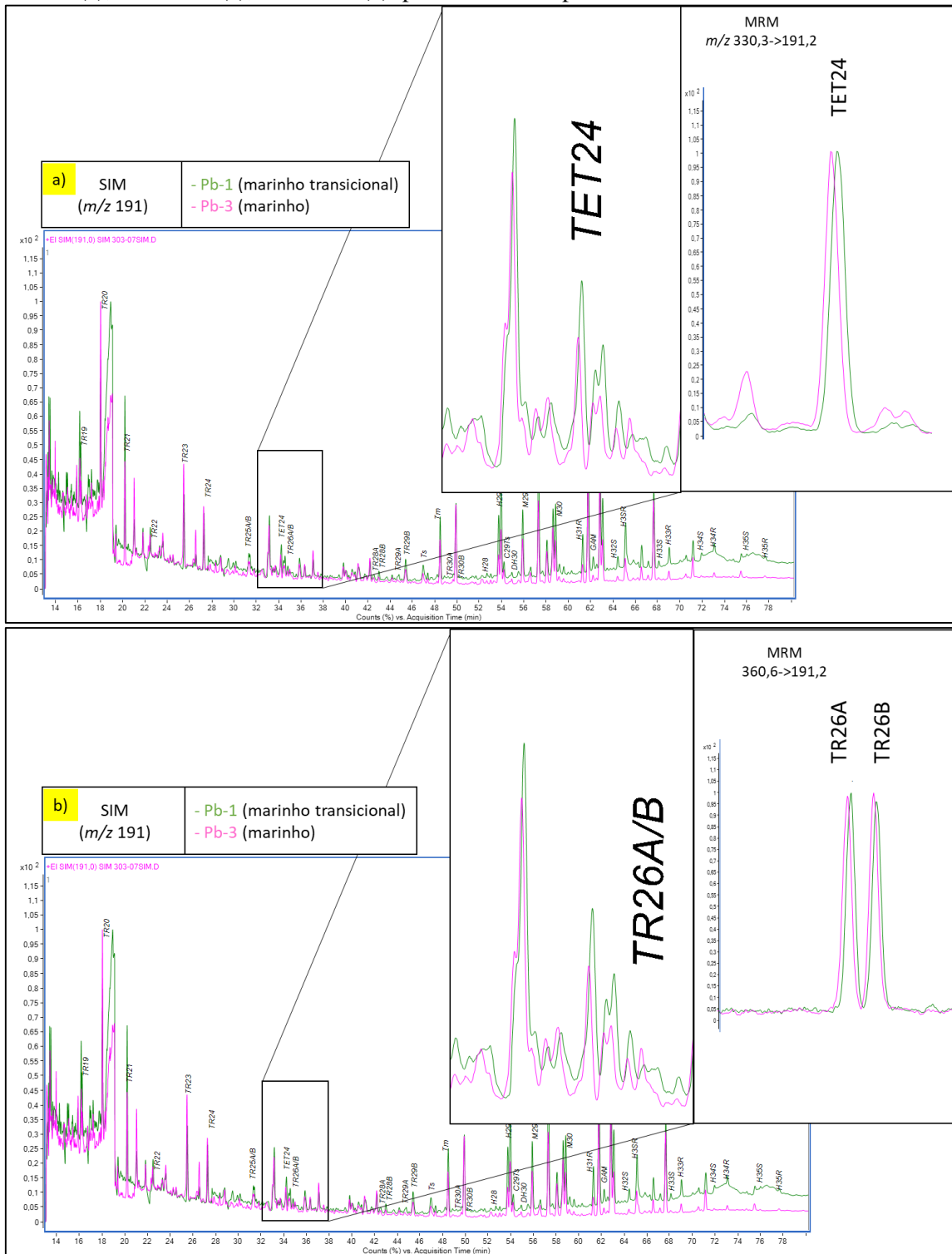
Figura 9 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) (a) e MRM (b) representativo da Bacia do Parnaíba característico de paleoambiente marinho (Pb-3)

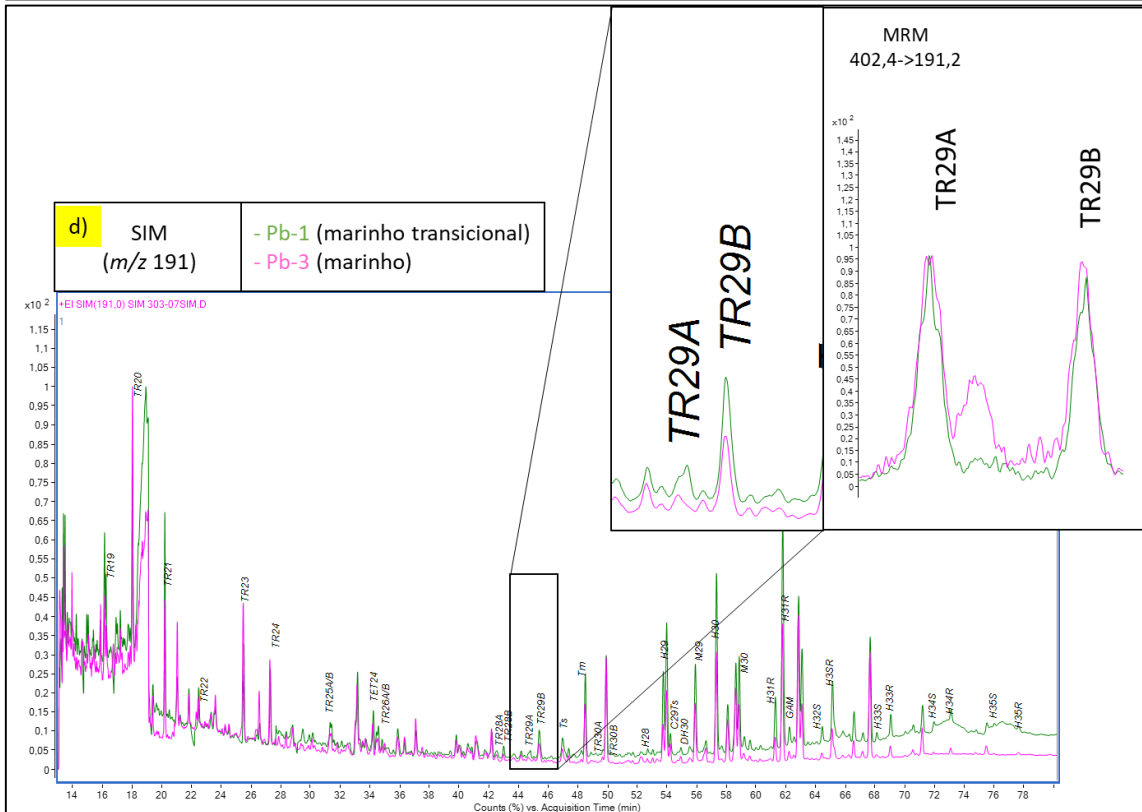
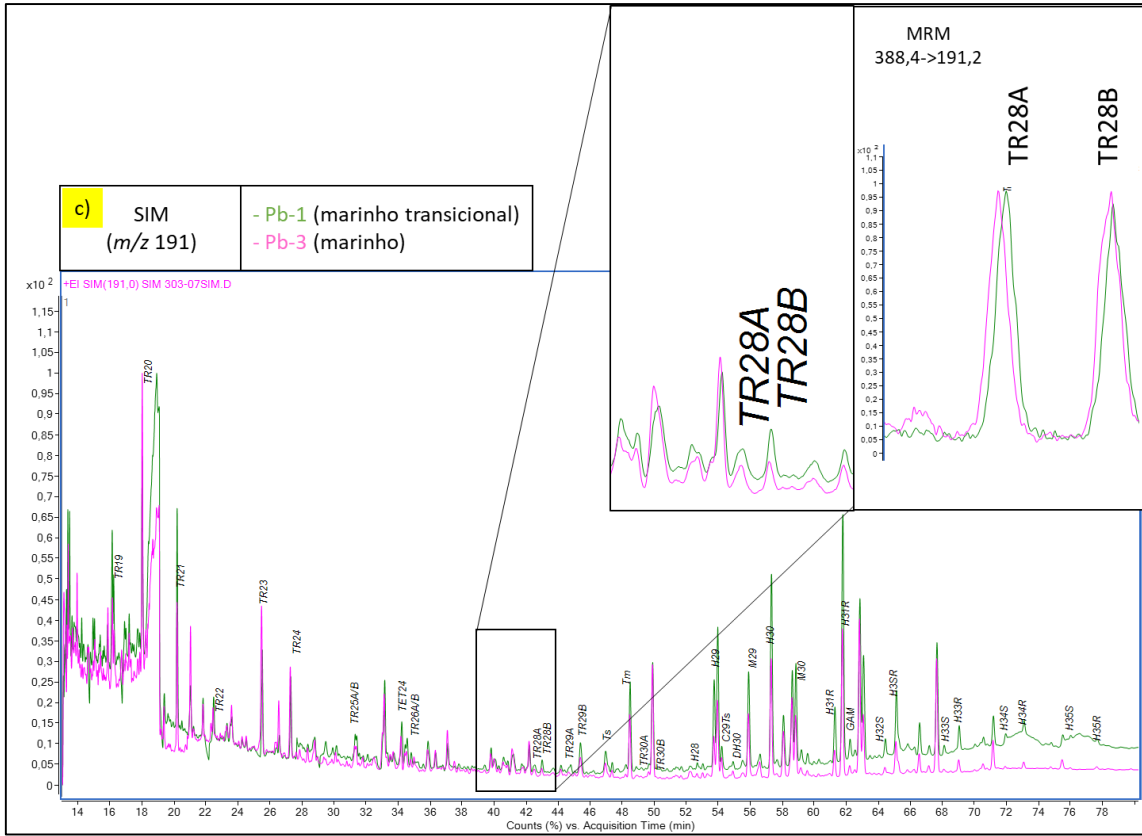


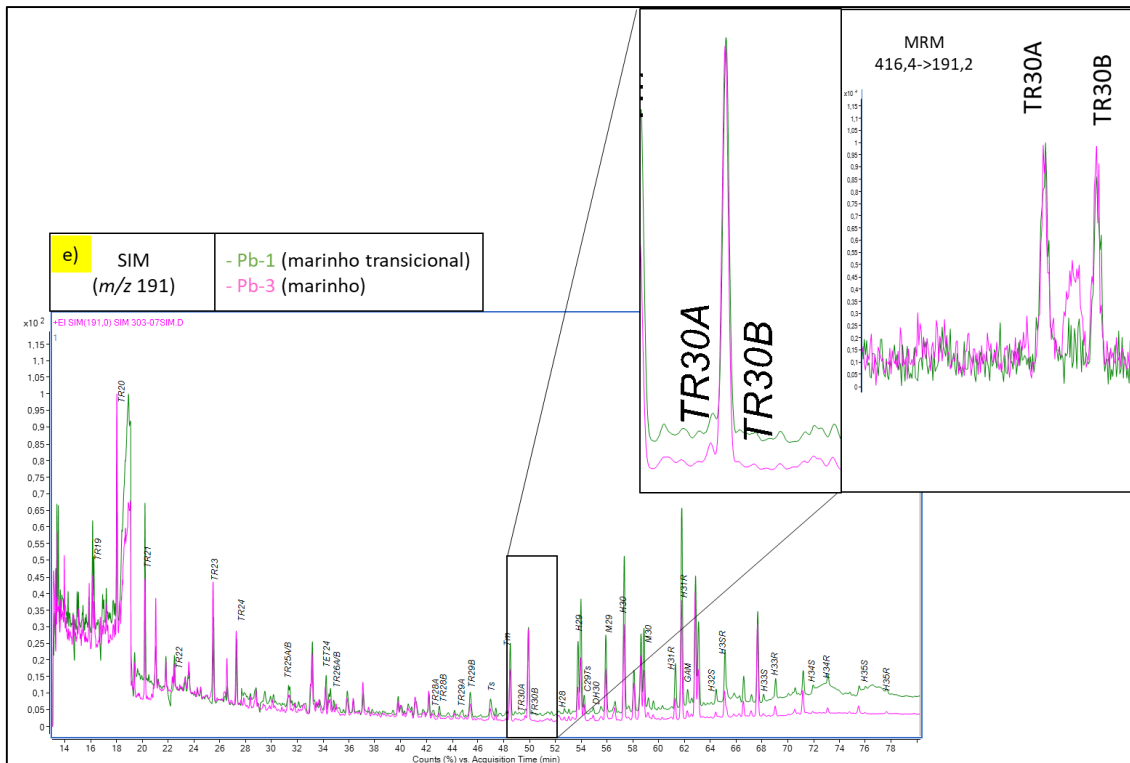
Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção dos compostos TR19 (m/z 262,3→191,2); TR20 (m/z 276,3→191,2); TR21 (m/z 290,3→191,2); TR22 (m/z 304,3→191,2); TR23 (m/z 318,3→191,2); TR24 (m/z 332,3→191,2); TR25A/B (m/z 346,4→191,2); TET24 (m/z 330,3→191,2); TR26A/B (m/z 360,4→191,2); TR28A/B (m/z 388,4→191,2); TR29A/B (m/z 402,4→191,2); Ts/Tm (m/z 370,4→191,2); TR30A/B (m/z 416,4→191,2); H28 (m/z 384,4→191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4→191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4→191,2); H31(S+R) (m/z 426,4→191,2); H32(S+R) (m/z 440,4→191,2); H33(S+R) (m/z 454,4→191,2); H34(S+R) (m/z 468,5→191,2); H35(S+R) (m/z 482,5→191,2).

Para os problemas de coeluição evidenciados entre os compostos tricíclicos terpanos e tetracíclico, observou-se através dos compostos TET24, TR26A/B e TR28A/B, TR29A/B e TR30A/B (Figura 13) uma separação com menor eficiência pelo modo SIM. Entretanto, foi observado que através do modo MRM, os compostos em questão foram melhores resolvidos, aumentando os valores de razões diagnósticas, como por exemplo, o da razão TR26/TR28 (Apêndice C).

Figura 10 - Comparativo entre os dois modos de monitoramento, SIM e MRM, para os compostos TET24 (a), TR26A/B (a), TR28A/B (b) para amostras representativas da Baía do Parnaíba

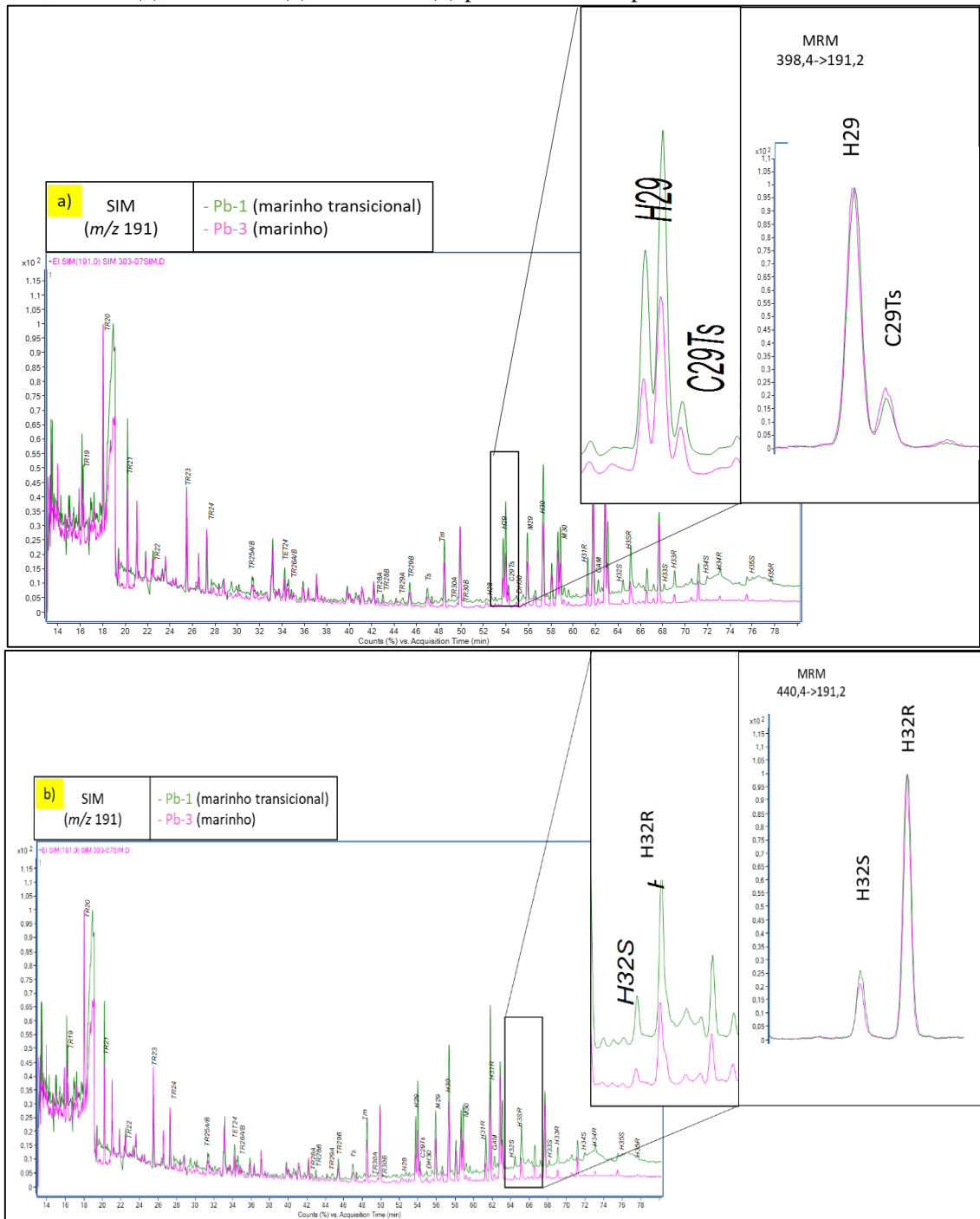


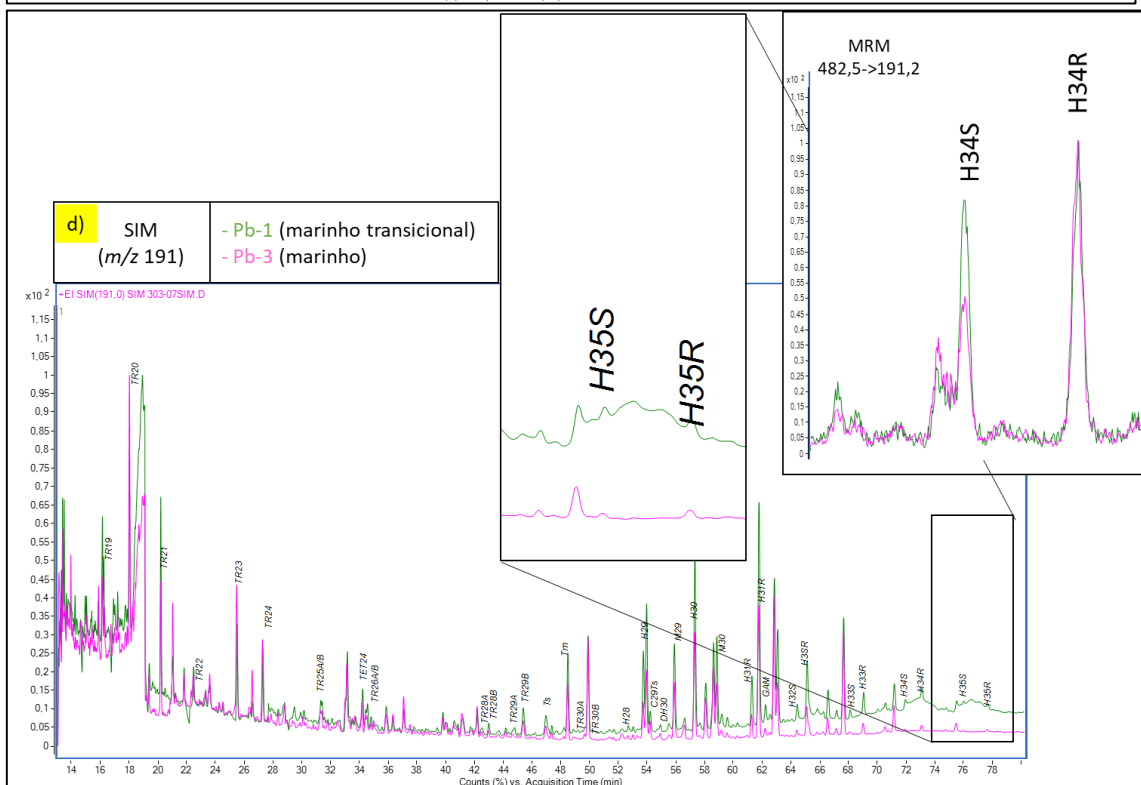
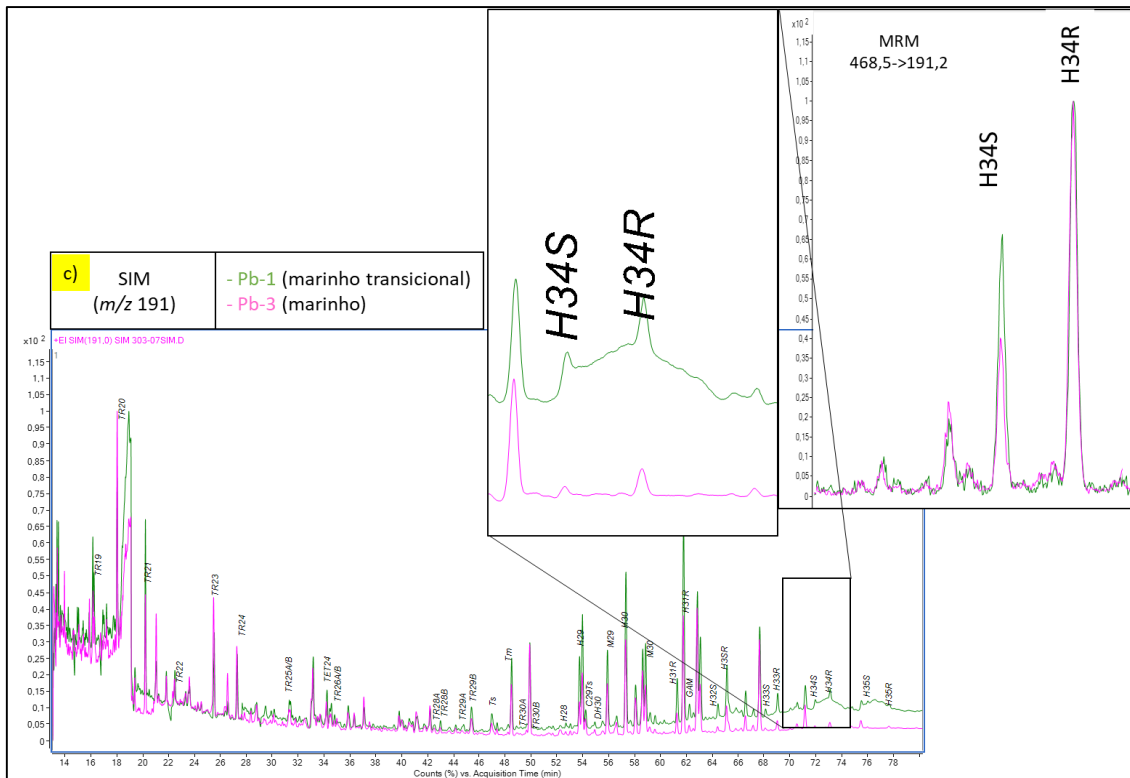




Para essas análises das amostras da Baía do Parnaíba, também, encontrou-se problemas de coeluição para os compostos da série dos hopanos e homohopanos. Através do comparativo entre os modos de monitoramento apresentado na Figura 14, mostra-se que o modo MRM fornece maior acurácia para compostos como H29, H32S/R, H34S/R e H35S/R.

Figura 11 - Comparativo entre os dois modos de monitoramento, SIM e MRM, para os compostos H29, C29Ts (a), TR26A/B (a), TR28A/B (b) para amostras representativas da Baía do Parnaíba





Os cromatogramas de massas referentes ao monitoramento do íon m/z 217 e m/z 259 para a família dos esteranos e diaesteranos e TPP para a Baía do Parnaíba (Figura 15 e 16) mostraram as mesmas tendências observadas para aqueles analisados nas amostras da Baía do Paraná (Figura 5). Os compostos mostraram coeluição no modo

SIM, enquanto que no modo MRM houve uma melhor separação dos compostos em questão.

5.3.2 Amostras de óleo

Diferentemente das amostras empregadas nesse estudo de rochas geradoras provenientes de bacias intracratônicas, as amostras de óleo das Bacias Potiguar e Santos, são provenientes da evolução tectono-sedimentar da margem continental brasileira. Estas bacias fazem parte de um sistema contínuo de bacias sedimentares originadas pelos mecanismos de distensão listosférica que, a partir do Mesozoico, conduziram a ruptura do paleocontinente Gondwana (MILANI et al., 2000).

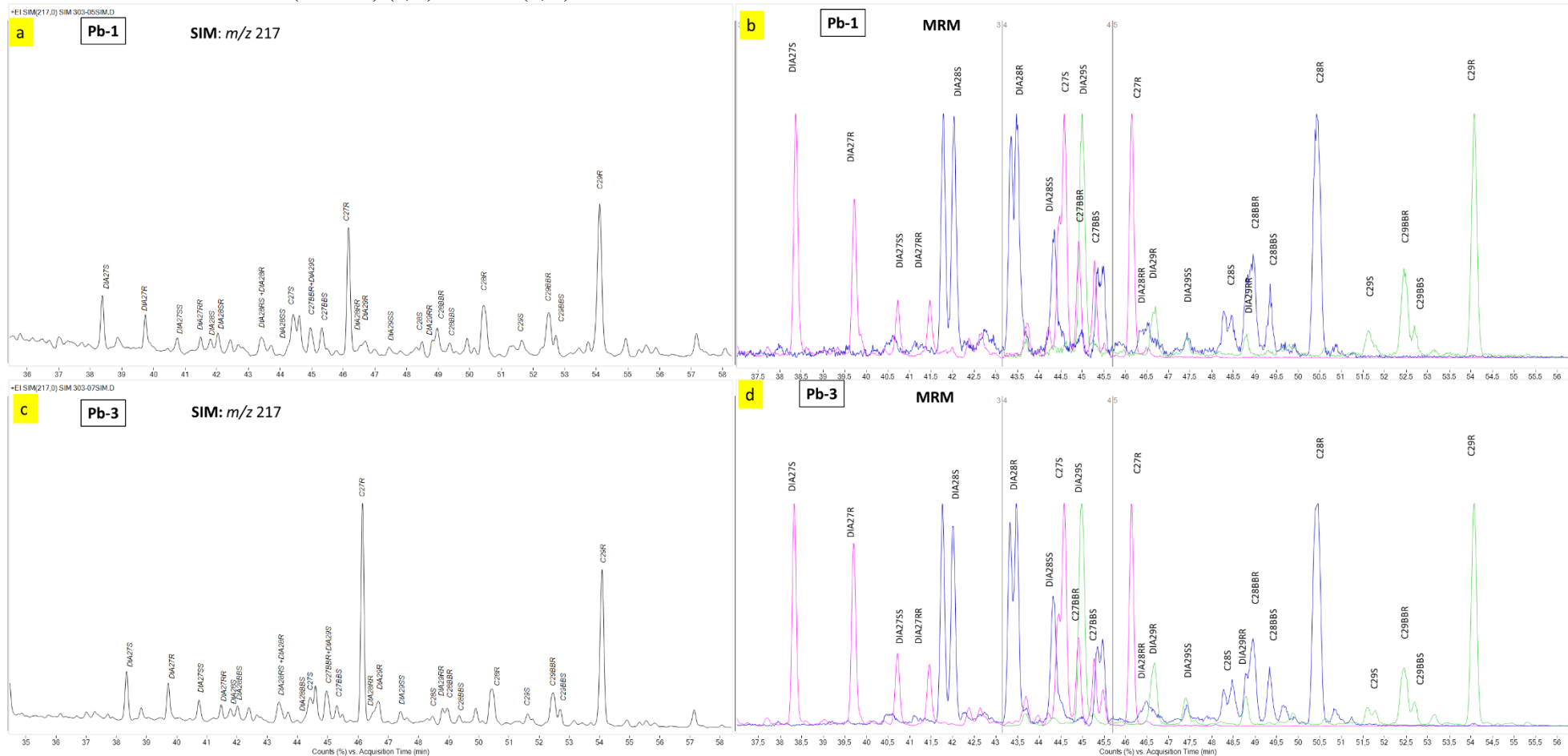
As quatro amostras de óleo provenientes da bacia Potiguar (OP-1, OP-2, OP-3 e OP-4) foram anteriormente caracterizadas por Alves e colaboradores (2018) o qual objetivaram correlacioná-las às suas respectivas rochas geradoras através de diversas ferramentas geoquímicas, como pelos parâmetros de compostos biomarcadores, pelas concentrações de metais, assim como pelas análises isotópicas de carbono. Logo sugeriu-se que as amostras OP-1 e OP-2 foram provenientes de rochas geradora depositadas em paleoambiente deposicional marinho evaporítico e as amostras OP-3 e OP-4, em paleoambiente lacustre doce. Já a amostra proveniente da bacia de Santos (OS) foi caracterizada no trabalho de Reyes (2015) como proveniente de uma rocha geradora depositada em um paleoambiente lacustre salino.

Pela quantidade e distribuição das amostras referentes a estas bacias, as análises qualitativas dos cromatogramas de massas foram apresentadas no mesmo item, conforme segue.

5.3.2.1 Bacia de Santos e Bacia Potiguar

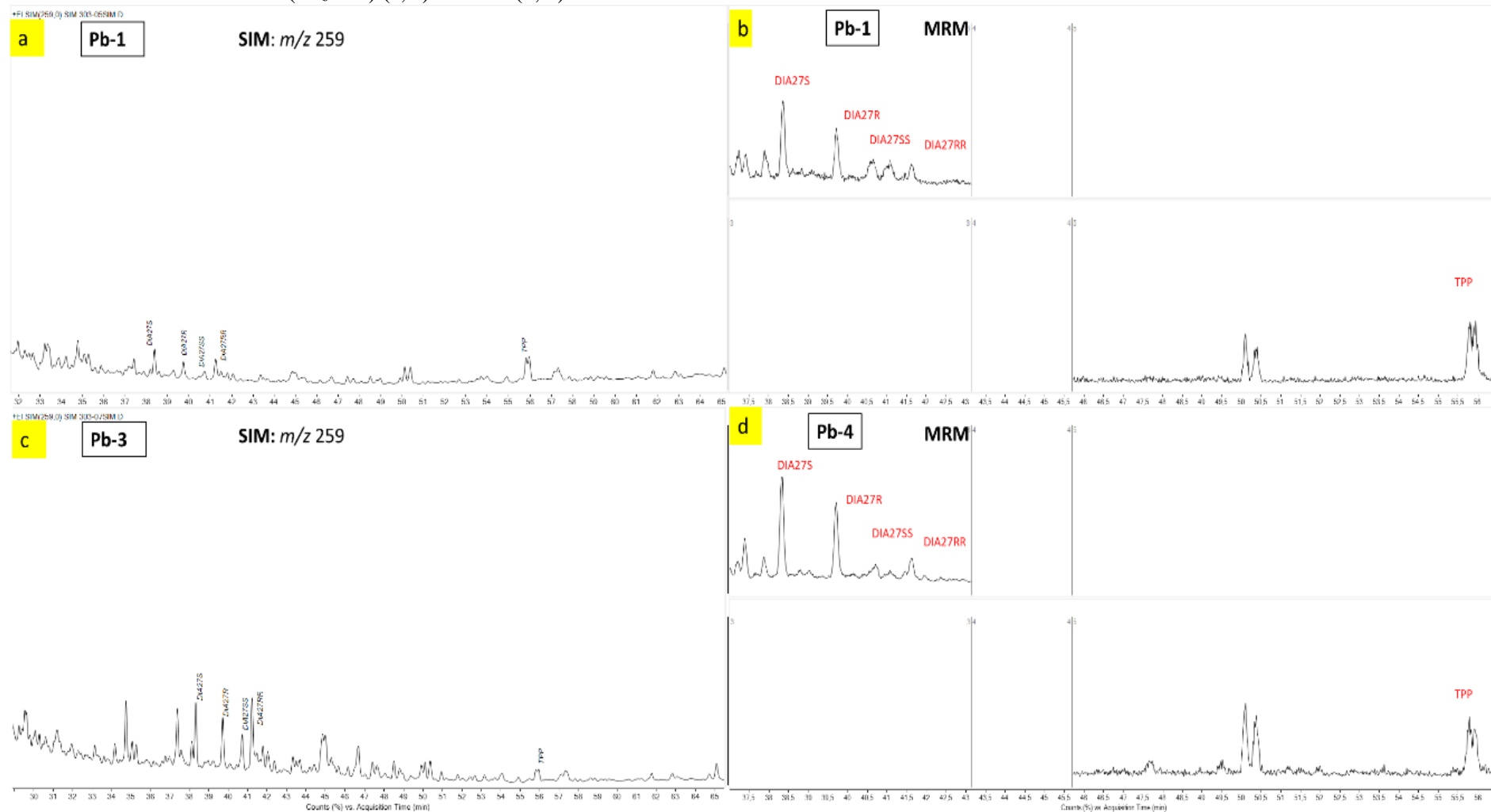
A análise qualitativa dos cromatogramas dos terpanos (m/z 191) das amostras de óleo representadas como OS, OP-2 e OP-3, cujos paleoambientes deposicionais da rocha geradora foram classificados como: lacustre salino, marinho evaporítico e lacustre doce, respectivamente, mostrou que no modo SIM foi possível identificar de forma mais precisa os compostos (Figura 17), quando comparado aos resultados obtidos para as amostras de extrato de rocha geradora (Figuras 4 e 10). Esse comportamento pode ser explicado pelo fato dos terpanos estarem, normalmente, em concentrações mais elevadas em petróleos classificados como médios, como é o caso das amostras de óleo estudadas, do que em extratos de rochas geradoras.

Figura 12 - Cromatogramas representativos da Bacia do Parnaíba característico de paleoambiente marinho transicional (Pb-1) e marinho (Pb-3), obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 217) (a, c) e MRM (b, d)



Transições utilizadas no modo MRM para obtenção do esteranos DIA27S/ DIA27R/ DIA27SS/ DIA27RR/ C27S/ C27BBS/ C27R (m/z 372,4→217,2); DIA28S/ DIA28R/ DIA28SS/ DIA28RR/ C28S/ C28BBS/ C28R (m/z 386,4→217,2); DIA29S/ DIA29R/ DIA29SS/ DIA29RR/ C29S/ C29BBS/ C29R (m/z 400,4→217,2).

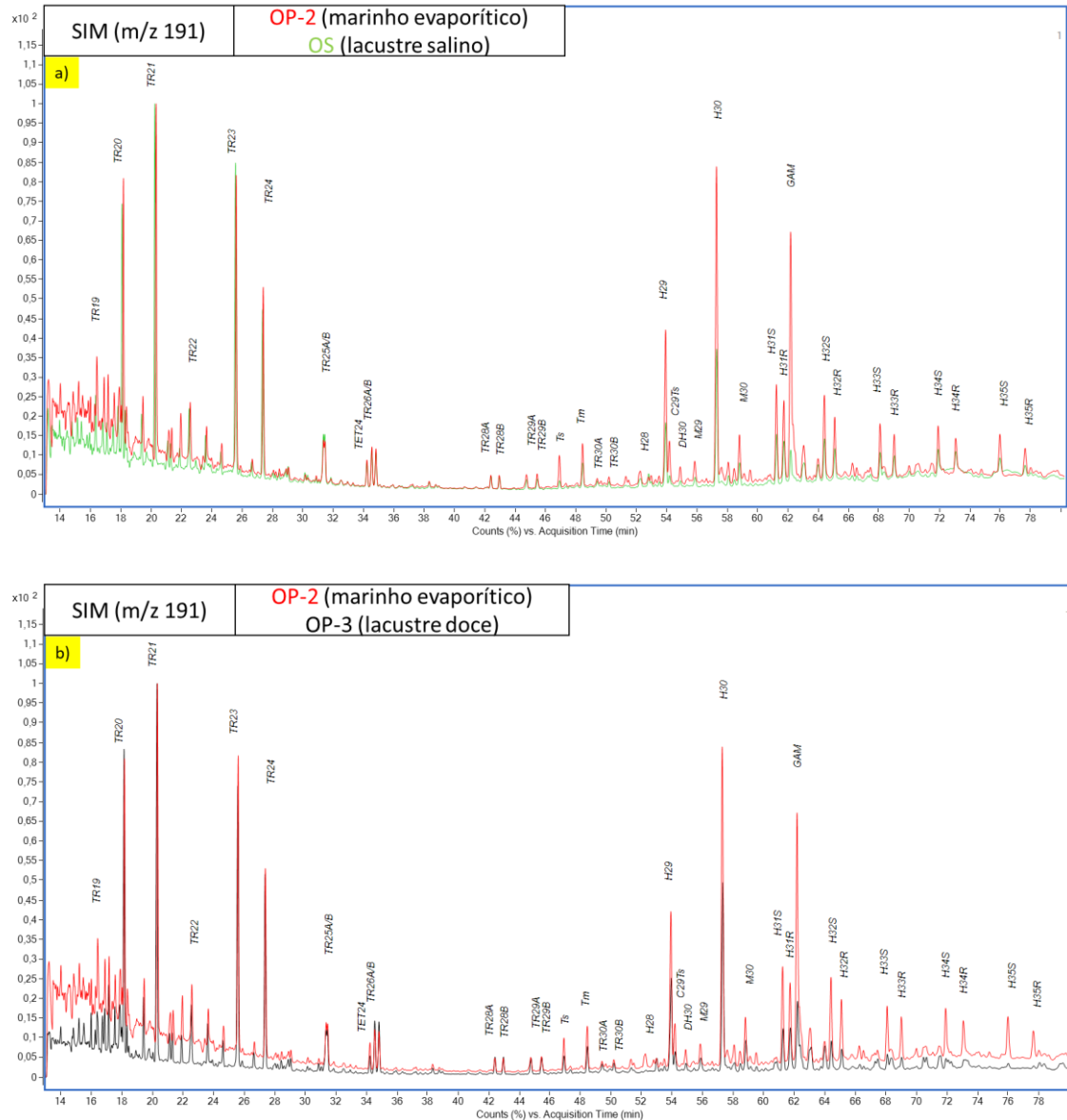
Figura 13 - Cromatogramas representativos da Baía do Parnaíba característico de paleoambiente marinho transicional (Pb-1) e marinho (Pb-3), obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 259) (a, c) e MRM (b, d)

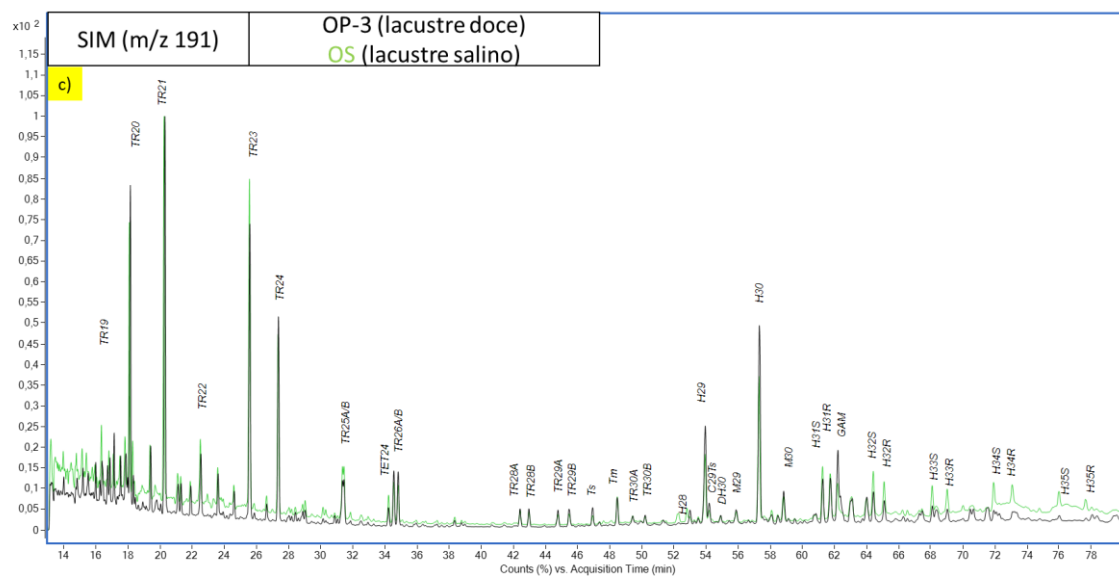


Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do esteranos DIA27S/ DIA27R/ DIA27SS/ DIA27RR (m/z 372,4→259,3)/ TPP (m/z 414,4→259,3).

Na Figura 17 foi apresentado os três cromatogramas representativos dos óleos, de modo sobreposto, a fim de avaliar as diferenças em relação as variações de paleoambientes deposicionais, comparando a amostra OP-2 e OS (Figura 17a), OP-2 e OP-3 (Figura 17b) e OP-3 e OS (Figura 17c).

Figura 14 - Cromatogramas obtidos pelo modo SIM (m/z 191) representativo da Baía Potiguar e Santos característicos de paleoambiente marinho evaporítico (OP-2), lacustre doce (OP-3) e lacustre salino (OS)



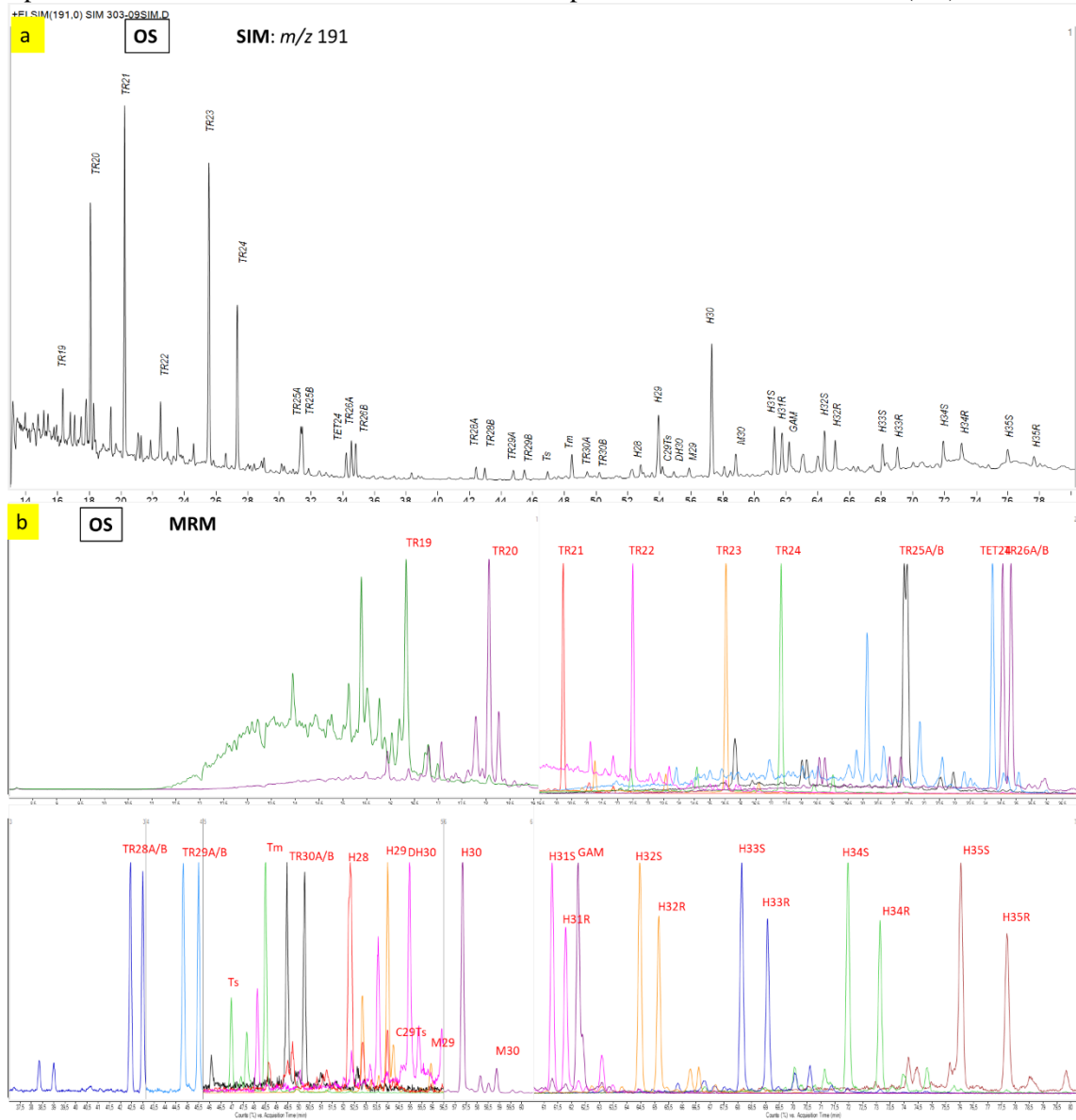


Observou-se que as diferenças nos cromatogramas foram mais destacáveis para as amostras OP-2 e OP-3 (Figura 17b) e OP-3 e OS (Figura 17c), indicando que as distribuições dos picos modificaram devido a variação do paleoambiente deposicional, ou pela concentração das amostras ou devido aos níveis de maturação o qual cada óleo foi gerado.

Nas figuras 18, 19 e 20 foram apresentados os resultados cromatográficos dos dois modos de monitoramento obtidos: SIM (a) e MRM (b).

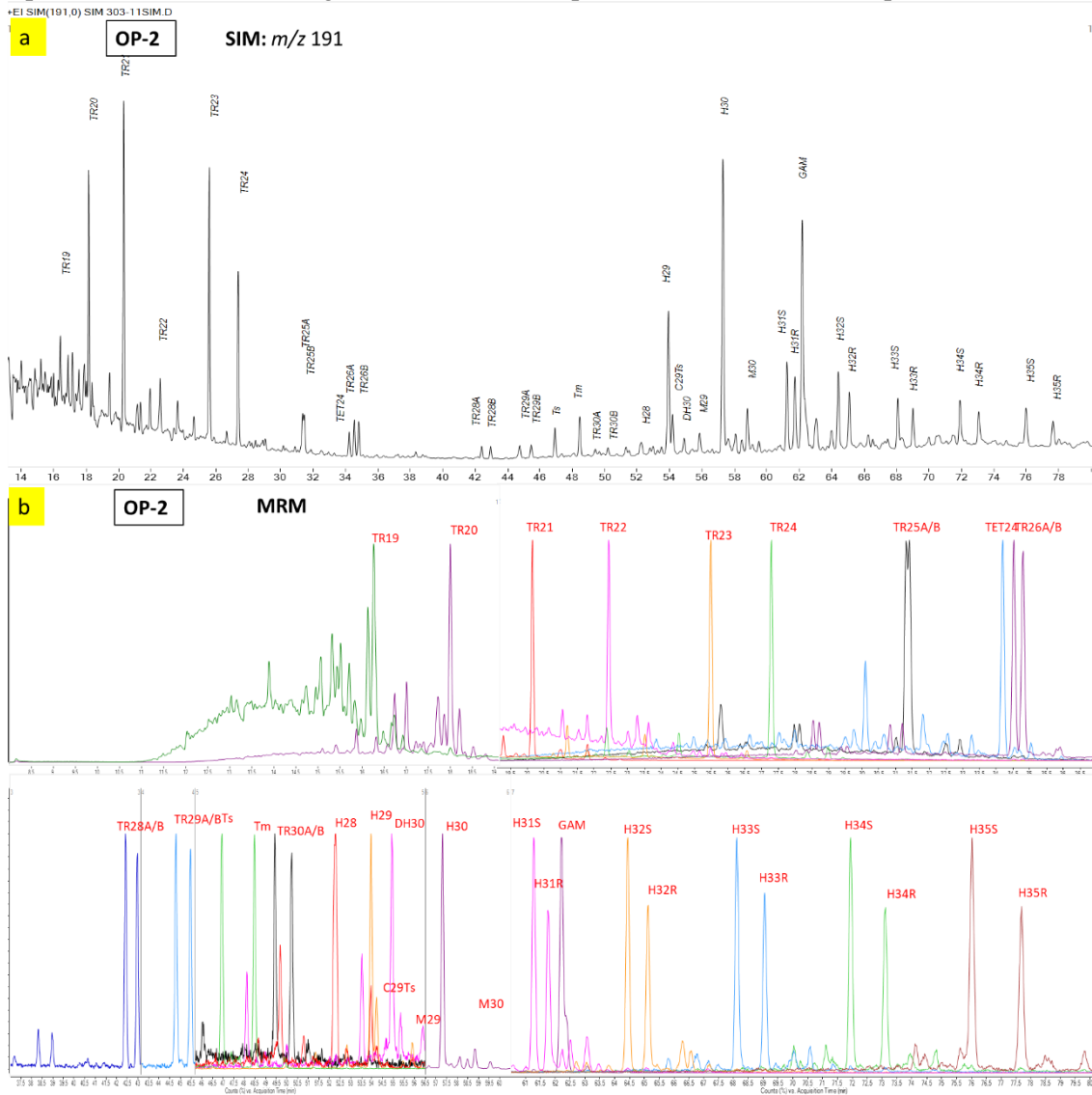
Os compostos terpanos tricíclicos, de um modo geral, apresentaram-se com picos mais bem resolvidos e em maior abundância, quando comparados com os cromatogramas obtidos pelas análises dos extratos de rochas, não apresentando discrepância entre os picos analisados pelos dois modos. Observou-se que para este grupo de amostras, a maioria das razões envolvendo os terpanos tricíclicos, como por exemplo das razões TR26/TR28, TET/TR26 (Apêndice C), não apresentaram variações significativas quando se comparou os dois modos de monitoramento.

Figura 15 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) (a) e MRM (b) representativo da Bacia de Santos característico de paleoambiente lacustre salino (OS)



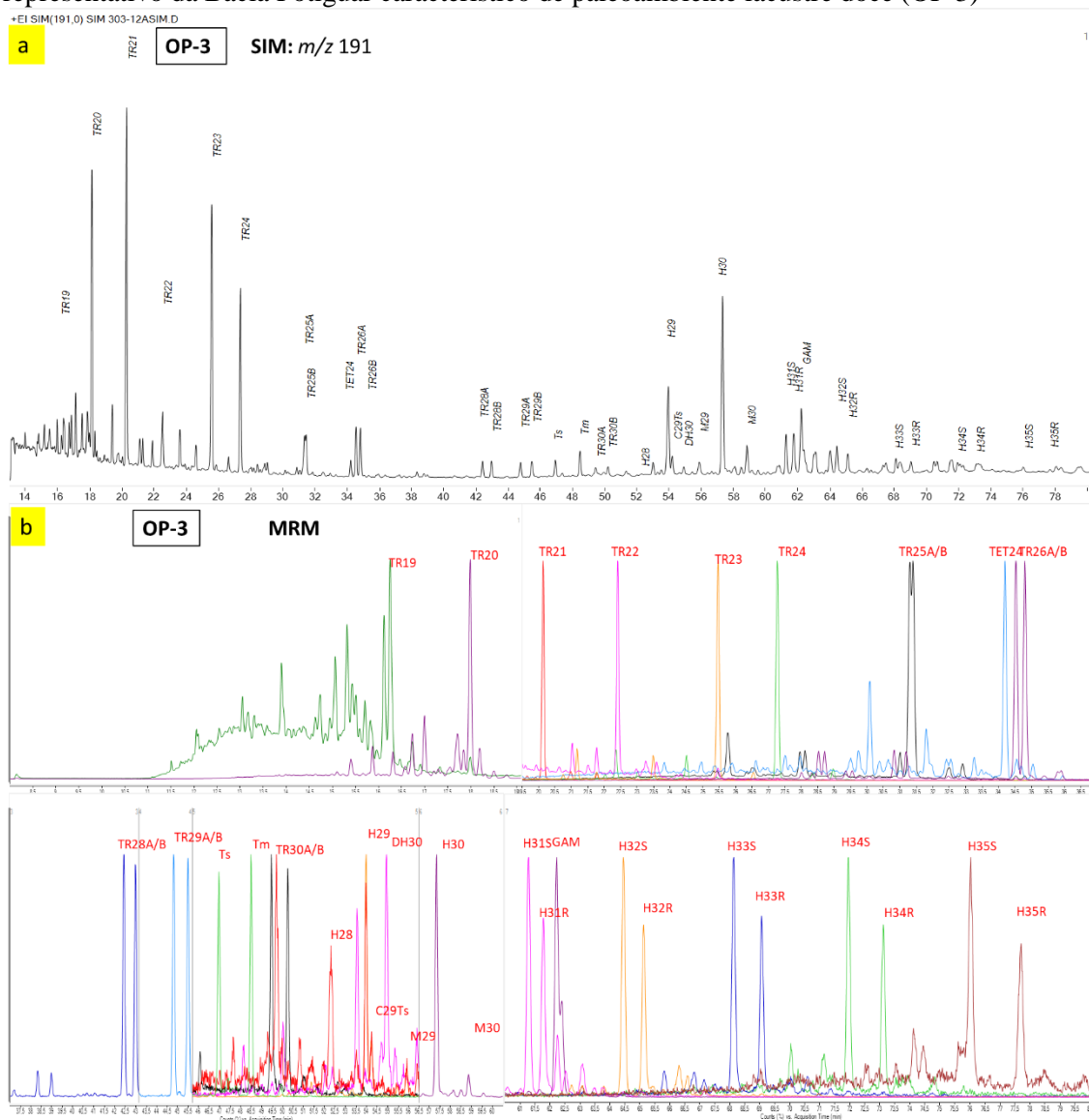
Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3 \rightarrow 191,2); TR20 (m/z 276,3 \rightarrow 191,2); TR21 (m/z 290,3 \rightarrow 191,2); TR22 (m/z 304,3 \rightarrow 191,2); TR23 (m/z 318,3 \rightarrow 191,2); TR24 (m/z 332,3 \rightarrow 191,2); TR25A/B (m/z 346,4 \rightarrow 191,2); TET24 (m/z 330,3 \rightarrow 191,2); TR26A/B (m/z 360,4 \rightarrow 191,2); TR28A/B (m/z 388,4 \rightarrow 191,2); TR29A/B (m/z 402,4 \rightarrow 191,2); Ts/Tm (m/z 370,4 \rightarrow 191,2); TR30A/B (m/z 416,4 \rightarrow 191,2) H28 (m/z 384,4 \rightarrow 191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4 \rightarrow 191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4 \rightarrow 191,2); H31(S+R) (m/z 426,4 \rightarrow 191,2); H32(S+R) (m/z 440,4 \rightarrow 191,2); H33(S+R) (m/z 454,4 \rightarrow 191,2); H34(S+R) (m/z 468,5 \rightarrow 191,2); H35(S+R) (m/z 482,5 \rightarrow 191,2).

Figura 16 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) (a) e MRM (b) representativo da Bacia Potiguar característico de paleoambiente marinho evaporítico (OP-2)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3 \rightarrow 191,2); TR20 (m/z 276,3 \rightarrow 191,2); TR21 (m/z 290,3 \rightarrow 191,2); TR22 (m/z 304,3 \rightarrow 191,2); TR23 (m/z 318,3 \rightarrow 191,2); TR24 (m/z 332,3 \rightarrow 191,2); TR25A/B (m/z 346,4 \rightarrow 191,2); TET24 (m/z 330,3 \rightarrow 191,2); TR26A/B (m/z 360,4 \rightarrow 191,2); TR28A/B (m/z 388,4 \rightarrow 191,2); TR29A/B (m/z 402,4 \rightarrow 191,2); Ts/Tm (m/z 370,4 \rightarrow 191,2); TR30A/B (m/z 416,4 \rightarrow 191,2) H28 (m/z 384,4 \rightarrow 191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4 \rightarrow 191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4 \rightarrow 191,2); H31(S+R) (m/z 426,4 \rightarrow 191,2); H32(S+R) (m/z 440,4 \rightarrow 191,2); H33(S+R) (m/z 454,4 \rightarrow 191,2); H34(S+R) (m/z 468,5 \rightarrow 191,2); H35(S+R) (m/z 482,5 \rightarrow 191,2).

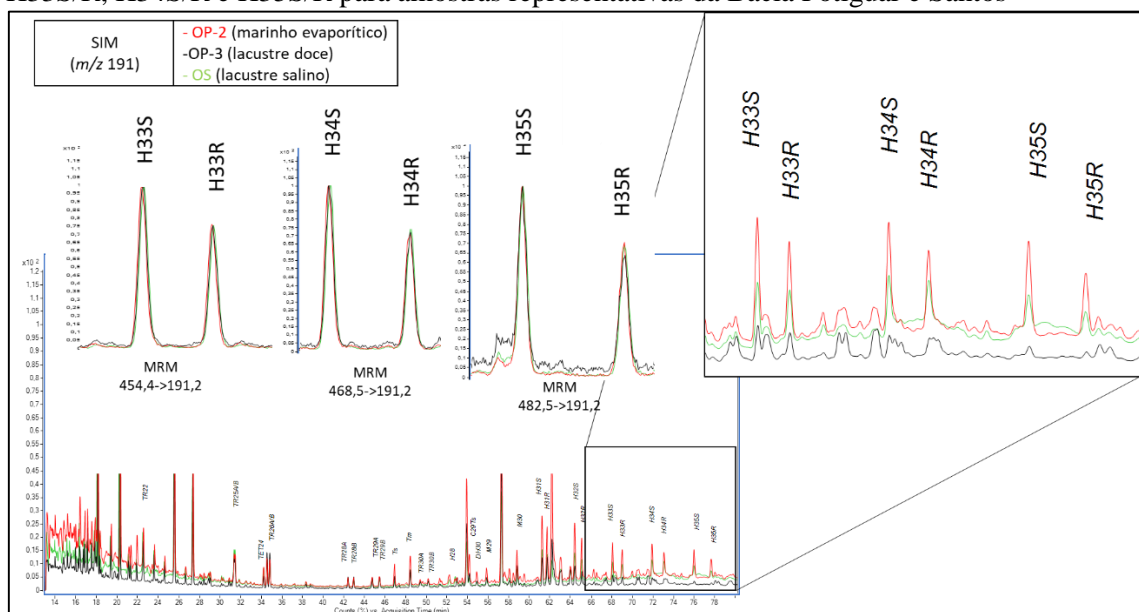
Figura 17 - Cromatogramas obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 191) (a) e MRM (b) representativo da Bacia Potiguar característico de paleoambiente lacustre doce (OP-3)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3→191,2); TR20 (m/z 276,3→191,2); TR21 (m/z 290,3→191,2); TR22 (m/z 304,3→191,2); TR23 (m/z 318,3→191,2); TR24 (m/z 332,3→191,2); TR25A/B (m/z 346,4→191,2); TET24 (m/z 330,3→191,2); TR26A/B (m/z 360,4→191,2); TR28A/B (m/z 388,4→191,2); TR29A/B (m/z 402,4→191,2); Ts/Tm (m/z 370,4→191,2); TR30A/B (m/z 416,4→191,2) H28 (m/z 384,4→191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4→191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4→191,2); H31(S+R) (m/z 426,4→191,2); H32(S+R) (m/z 440,4→191,2); H33(S+R) (m/z 454,4→191,2); H34(S+R) (m/z 468,5→191,2); H35(S+R) (m/z 482,5→191,2).

Entretanto, para a série dos homohopanos, observa-se que para determinados compostos, assim como para determinados óleos, esses compostos apresentaram problemas de coeluição, como mostrado na Figura 21 os exemplos dos compostos H33S/R, H34S/R e H35S/R que apresentaram melhores resoluções pelo modo MRM.

Figura 18- Comparativo entre os dois modos de monitoramento, SIM e MRM, para os compostos H33S/R, H34S/R e H35S/R para amostras representativas da Bacia Potiguar e Santos



Para a família dos biomarcadores classificados como esteranos, a análise dos cromatogramas de massas no modo SIM foi realizada pelo monitoramento do íon m/z 217. A Figura 22 mostra a correlação dos três paleoambientes relacionados a esses óleos através da sobreposição dos cromatogramas, tendo a amostra OP-2 e OS (Figura 22a), OP-2 e OP-3 (Figura 22b) e OP-3 e OS (Figura 22c).

Contudo, apesar da análise dos cromatogramas de massas no modo SIM para os esteranos e diaesteranos (m/z 217) mostrarem as mesmas tendências de coeluição entre os compostos biomarcadores de interesse mostrados para as amostras de rocha, observou-se que as razões que mais mostraram variações entre os modos de monitoramento foram aquelas envolvendo os esteranos, tal como a razão HOP/EST. A Figura 23 mostra como o modo MRM faz uma separação entre os grupos C27, C28 e C29 dos esteranos, reduzindo desta maneira as interferências causadas pelas sobreposições dos picos no modo SIM.

Apesar do aumento na sensibilidade pelo modo MRM, amostras muito complexas, como o caso do petróleo, resulta numa elevada mistura de estereoisômeros, que possuem estruturas semelhantes, gerando coeluições e fragmentações espectrais de massa similares. Assim, a coeluição cromatográfica limitam significativamente a informação recolhida por estas técnicas analíticas (CASILLI, et al., 2014).

Figura 19 - Cromatogramas obtidos pelo modo SIM (m/z 217) representativo da Baía Potiguar e Santos característicos de paleoambiente marinho evaporítico (OP-2), lacustre doce (OP-3) e lacustre salino (OS)

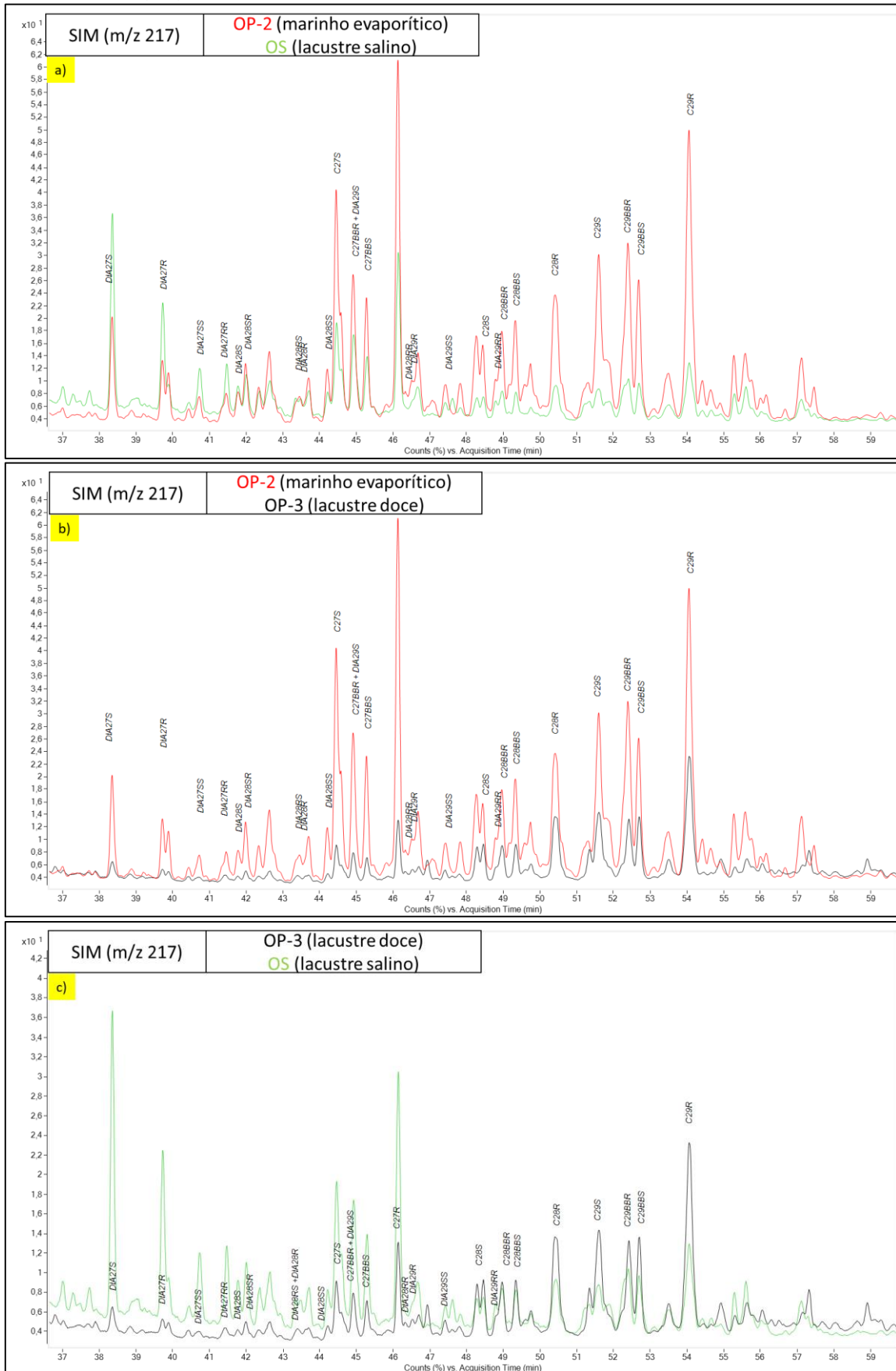
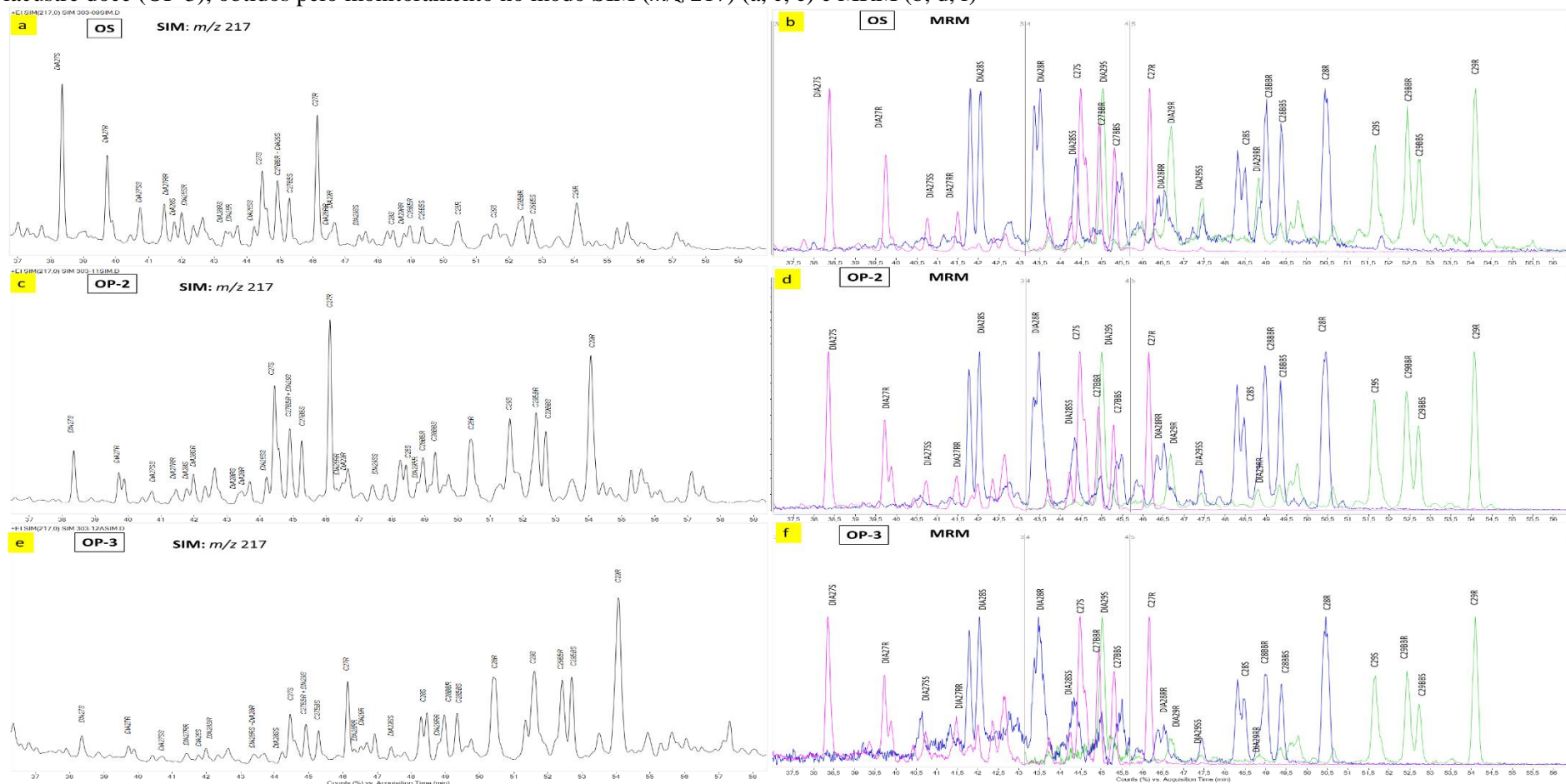
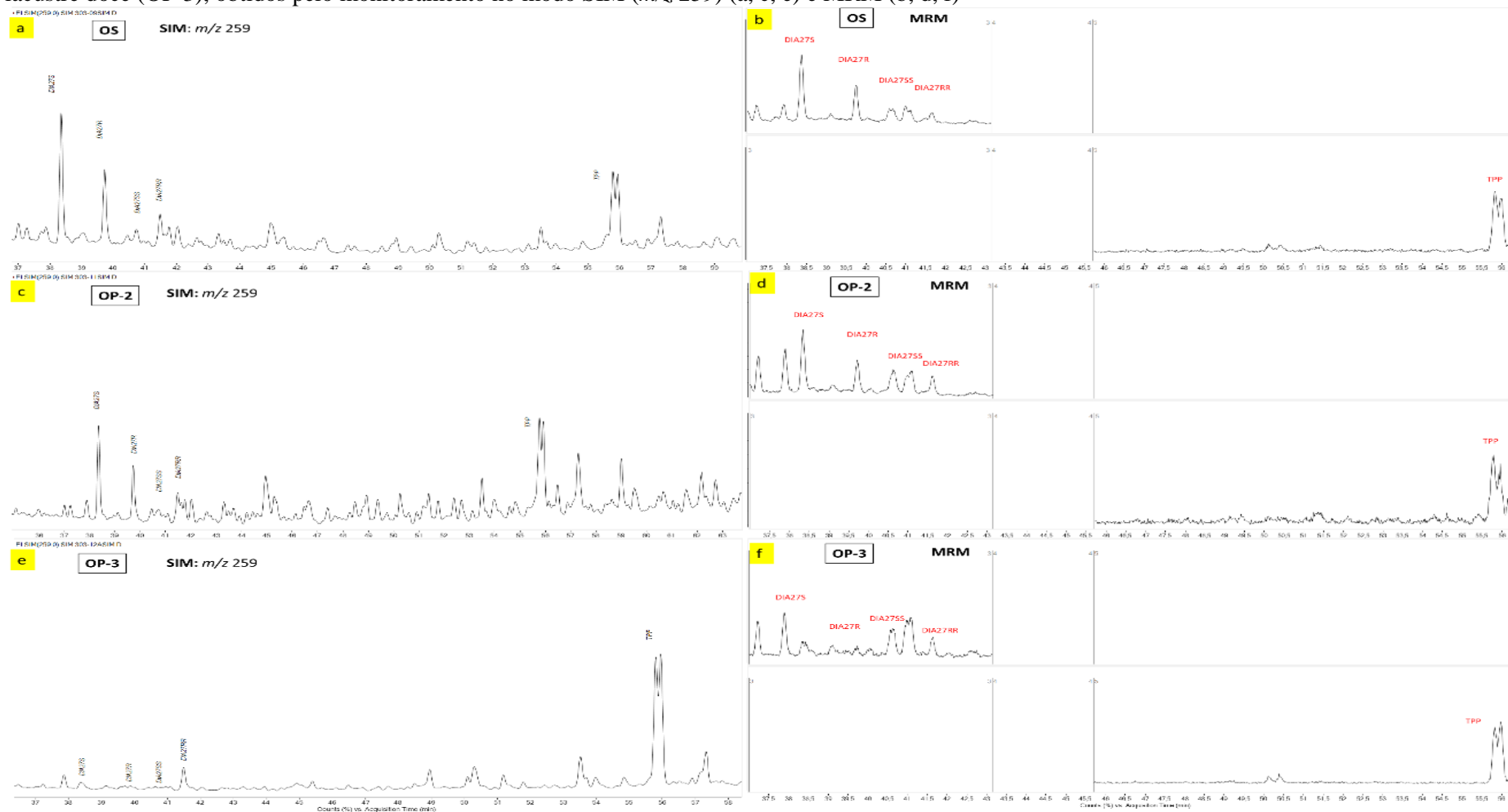


Figura 20 - Cromatogramas representativos da Bacia de Santos e Potiguar característico de paleoambientelacustre salino (OS), marinho evaporítico (OP-2) e lacustre doce (OP-3), obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 217) (a, c, e) e MRM (b, d, f)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do esteranos DIA27S/ DIA27R/ DIA27SS/ DIA27RR/ C27S/ C27BBS/ C27BBS/ C27R (m/z 372,4→217,2); DIA28S/ DIA28R/ DIA28SS/ DIA28RR/ C28S/ C28BBS/ C28BBS/ C28R (m/z 386,4→217,2); DIA29S/ DIA29R/ DIA29SS/ DIA29RR/ C29S/ C29BBS/ C29BBS/ C29R (m/z 400,4→217,2).

Figura 21 - Cromatogramas representativos da Bacia de Santos e Potiguar característico de paleoambientelacustre salino (OS), marinho evaporítico (OP-2) e lacustre doce (OP-3), obtidos pelo monitoramento no modo SIM (m/z 259) (a, c, e) e MRM (b, d, f)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do esteranos DIA27S/ DIA27R/ DIA27SS/ DIA27RR (m/z 372,4→259,3)/ TPP (m/z 414,4→259,3).

5.3.3 Razões diagnósticas de biomarcadores

As razões diagnósticas são amplamente utilizadas na geoquímica, sendo empregadas no levantamento de informações referentes à caracterização de rochas geradoras e de petróleo (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). As razões estudadas nesse trabalho foram aquelas que dão conhecimento sobre o tipo de matéria orgânica que foi depositada em maior quantidade durante o processo de formação da rocha geradora e das condições de seu paleoambiente deposicional, tais como: GAM/H₃₀, C₃₅ HHI, H₃₅/H₃₄, H₂₉/H₃₀, H₂₈/H₂₉, TET₂₄/H₃₀, TET₂₄/TRI₂₆, TRI₂₃/TRI₂₄, TRI₁₉/TRI₂₃, HOP/EST, TRI/HOP, Ts/(Ts+Tm), S/(S+R)C₂₉Est, TRI₂₁/TRI₂₃, TRI₂₄/TRI₂₅, TRI₂₆/TRI₂₅, TRI₂₆/TRI₂₈, TR₂₃/H₃₀, H₂₈/TRI₂₃, Gam/TRI₂₃, H₂₉/C₂₉Ts, %27Est, %28Est, %29Est, TPP₃₀, %DIA₂₇, %DIA₂₈, %DIA₂₉ (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). No Apêndice C encontram-se todos os resultados das razões diagnósticas supracitadas, obtidas pelos dois modos de monitoramento (SIM e MRM).

O gamacerado é um biomarcador de grande relevância nos estudos geoquímicos por apresentar-se altamente específico para indicar a estratificação da coluna d'água durante a deposição da rocha geradora, por este motivo a sua presença é característica em condições de água hipersalina (DAMSTÉ et al., 1995; PETERS; WALTER; MOLDOWAN, 2005). Os valores citados na literatura por Sefein, Nguyen e Philp (2017) variam de 0,02 a 0,07, quando se sugere que não houve estratificação ou mudança na salinidade durante o processo de deposição. Cheng e colaboradores (2018) encontraram valores entre 0,05 a 0,20 em amostras cuja deposição de matéria orgânica se deu sob episódios de hipersalinidade da água no ambiente deposicional.

Foi calculado para todas as amostras o índice de gamacerano através da razão GAM/H₃₀ e os valores encontrados variaram entre 0,00-1,34 (Apêndice C). Observou-se que os valores tiveram uma tendência de aumento quando obtidos pelo modo SIM, sugerindo que pode ter havido alguma coeluição entre os compostos de interesse. Entretanto, as amostras referentes aos paleoambientes marinho hipersalino e marinho evaporítico apresentaram os maiores valores para esta razão, como esperado, por ambos os modos de monitoramento.

A distribuição da série dos homohopanos nos cromatogramas de massas são dominadas pelo C₃₁ homohopano e geralmente diminuem em direção ao C₃₅ homohopano. Estas relações são úteis para avaliar as condições redox da rocha geradora durante o processo de deposição e de diagênese da matéria orgânica (PETERS;

WALTER; MOLDOWAN, 2005). O índice dos homohopanos das amostras, foi obtido pelo cálculo da razão dos homohopanos C_{35} HHI, cujos valores encontram-se no Apêndice C. Os maiores valores obtidos para esta razão foram para as amostras da Bacia Potiguar (OP-1 e OP-2), cujo paleoambiente foi classificado como marinho evaporítico, variando entre 0,11 a 0,16, sugerindo condições anóxicas de deposição.

Os terpanos tetracíclicos (TET) estão amplamente distribuídos no petróleo e nos extratos de rochas (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005; MA; HOU; SHI, 2014). Eles se estendem nas séries homólogas que variam do C_{24} a C_{27} (AQUINO NETO et al, 1982). A abundância dos terpanos tetracíclicos C_{24} é um forte indicativo de *input* de matéria orgânica terrestre, de rocha geradora carbonática ou ambiente deposicional evaporítico (MA; HOU; SHI, 2014; HUANG; ZHANG; SU, 2015). Através dos valores obtidos pelas razões TET_{24}/H_{30} , TET_{24}/TRI_{26} , pode-se observar que houve uma tendência de aumento no valor destas razões para as análises realizadas no modo MRM, para a maioria das amostras. Outro comportamento observado foi que somente para as amostras da Bacia do Paraná a razão TET_{24}/TRI_{26} apresentou maiores variações entre as técnicas.

Os terpanos tricíclicos $TR_{26}A/B$ não foram bem separados quando analisados no modo SIM, principalmente, para as amostras da base do afloramento da Formação Irati (Pedreira Amaral Machado), representada pela amostra Pn-2 (Figura 4a). Ao comparar estes resultados com aqueles obtidos pelo modo MRM, observou-se picos mais definidos e separados, indicando a maior seletividade do método. Ao se avaliar os valores obtidos para a razão TET_{24}/TR_{26} (Apêndice C) observou-se que, para a Bacia do Paraná, os resultados apresentaram as maiores diferenças entre os modos de operação (SIM e MRM), sobretudo para as amostras da base do afloramento Amaral Machado.

A razão HOP/EST é utilizada para determinar a contribuição relativa de matéria orgânica procariota (bactéria) versus eucariotas (principalmente algas e vegetais superiores) ao paleoambiente das rochas geradoras (PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). O comportamento observado para esta razão mostrou uma tendência de diminuição dos valores quando analisados pelo modo MRM para todas as amostras, indicando possível coeluição quando o modo SIM foi empregado, a diminuição das áreas medidas dos compostos (picos) no modo MRM, em relação ao modo SIM, confirmou a maior seletividade deste modo de operação. Para a Bacia do Paraná observou-se os menores valores da razão HOP/EST para as amostras da base do afloramento, sugerindo paleoambiente marinho com contribuição de plâncton e/ou algas. Para as amostras do topo do afloramento, apesar da diminuição dos valores, observou-se

que há um aumento desta razão sugerindo uma deposição paleoambiental transicional com contribuição de matéria orgânica terrestre.

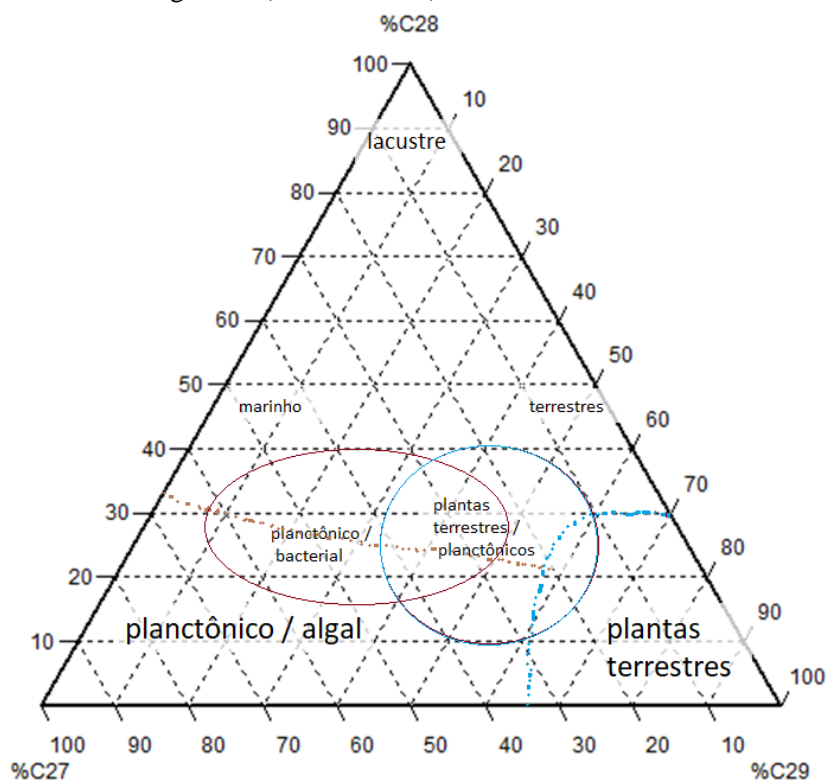
Para a Bacia do Paraná observa-se que apresentaram os menores valores para as amostras da base (marinho hipersalino), sugerindo paleoambiente marinho com contribuição de plâncton e/ou algas. Para as amostras do topo (marinho transicional), apesar da diminuição dos valores, mostra-se que há um aumento desta razão sugerindo uma deposição paleoambiental transicional com contribuição de matéria orgânica terrestre.

O mesmo comportamento foi observado para a Bacia do Parnaíba, entretanto os menores valores das razões foram obtidos para as amostras do topo do afloramento. O que está em concordância com os trabalhos anteriores, onde na base do afloramento houve uma maior contribuição de matéria orgânica terrestre (ZAMBRANO, 2015). Para o grupo das amostras de óleo foi observado as maiores diferenças entre as razões obtidas pelo modo SIM e pelo modo MRM, especialmente para as amostras relacionadas aos ambientes lacustres (OP-3, OP-4 e OS).

O principal uso do diagrama ternário, dos esteranos regulares C_{27} , C_{28} e C_{29} , é para diferenciar grupos de óleos ou fácies orgânicas de uma mesma rocha geradora (Figura 25) (HUANG; MEINSCHW, 1979; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). Este diagrama vem sendo empregado de forma satisfatória em trabalhos recentes utilizando CG-EM (BAYDJANOVA; GEORGE, 2019) e CG-EM/EM (SEFEIN; NGUYEN; PHILP, 2017).

No presente trabalho também foi utilizado este diagrama para avaliar as diferenças entre as respostas obtidas pelo monitoramento no modo SIM e no modo MRM (Figura 26). Observou-se que as amostras da Bacia do Parnaíba se concentraram entre os vértices do triângulo referentes aos esteranos C_{27} e C_{29} , de acordo com a classificação dos paleoambientes caracterizados previamente como matéria orgânica mista (Figura 26a) (ZAMBRANO, 2015). Em relação as disparidades entre os resultados obtidos para os modos de monitoramento, observou-se que não houve diferença relevante para a maioria das amostras dessa bacia, exceto para a amostra Pb-1.

Figura 22 - Diagrama ternário ilustrativo, que representa os paleoambientes em função da distribuição dos esteranos regulares (C₂₇, C₂₈ e C₂₉)



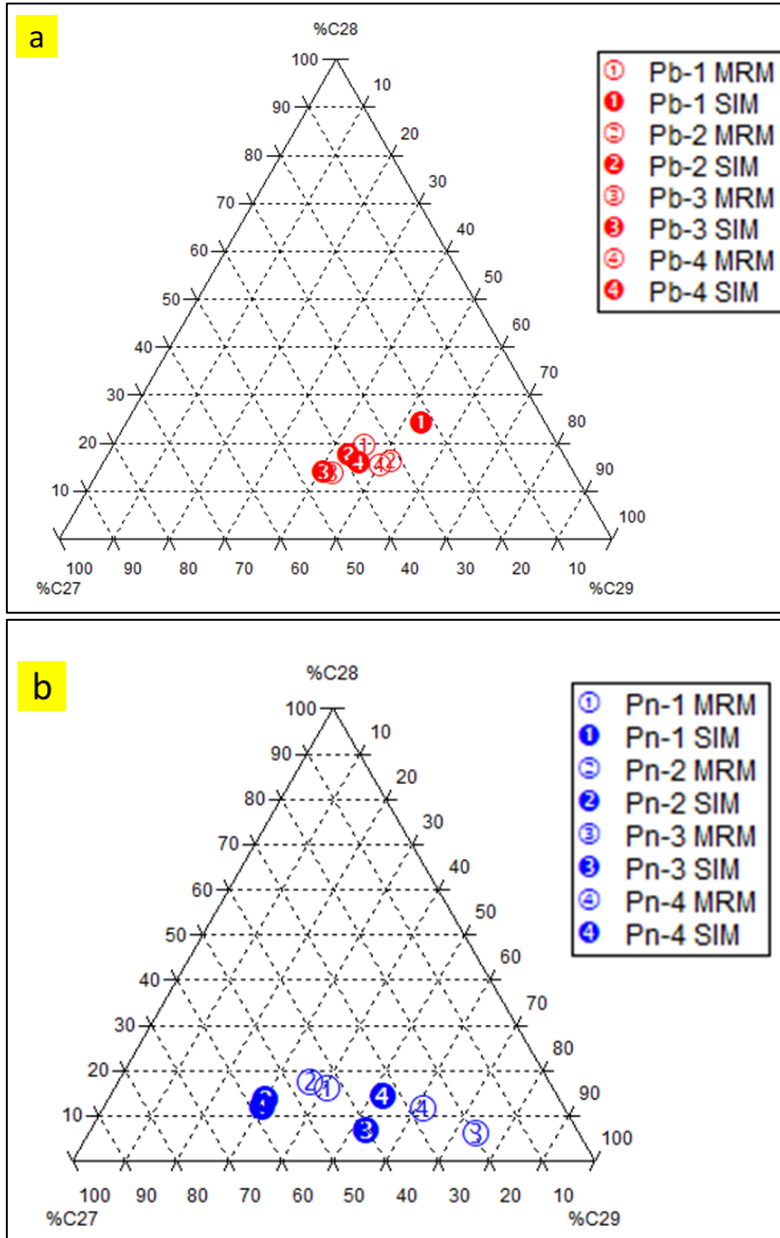
Fonte: Adaptado de Huang e Meinschew (1979); Baydjanova e George (2019).

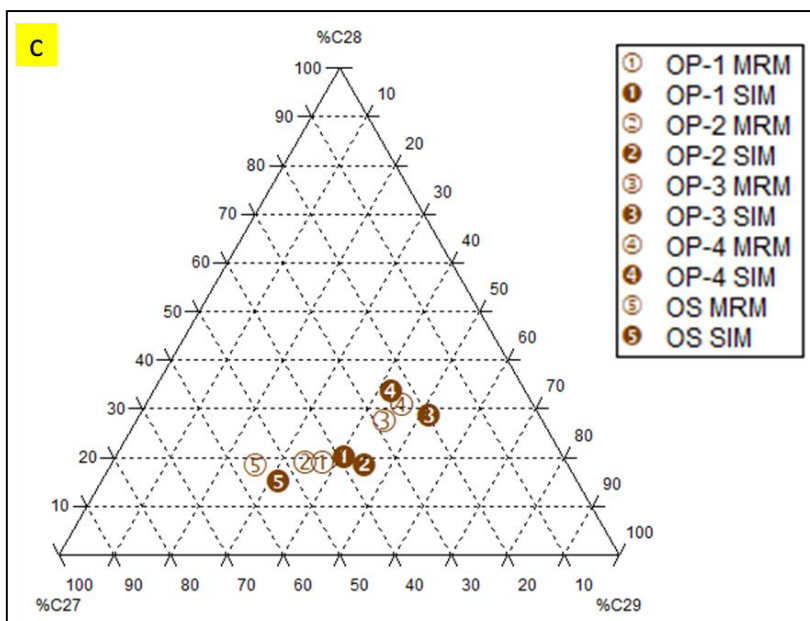
Para a Bacia do Paraná, observou-se que as distribuições destes compostos se dividiram entre os esteranos C₂₇ e C₂₉, onde as amostras Pn-1 e Pn-2 tiveram maior contribuição dos esteranos C₂₇ e as amostras Pn-3 e Pn-4, maior contribuição dos C₂₉, corroborando com os resultados obtidos por Martins (2018). Ambientes terrestres diferem dos ambientes marinhos em que as plantas superiores são os autotróficos dominantes em terra, enquanto organismos planctônicos relativamente simples são os autotróficos aquáticos dominantes (HUANG; MEINSCHEW, 1979). As amostras do afloramento apresentaram uma condição de *input* de matéria orgânica que variou da base para o topo com um aumento da contribuição de matéria orgânica terrestre. Através do diagrama ternário (Figura 26b) observou-se que para esta distribuição, houve uma maior distinção entre os modos de monitoramento para as amostras do topo do afloramento (Pn-3 e Pn-4).

O comportamento observado para as amostras de óleo da Bacia Potiguar no diagrama ternário foi relacionado ao paleoambiente deposicional lacustre doce para as amostras OP-3 e OP-4, com maiores proporções de esteranos C₂₉ e para as amostras OP-1 e OP-2, derivadas de matéria orgânica depositada em ambiente marinho evaporítico,

verificou-se a contribuição dos esteranos C_{27} . A amostra de óleo da Bacia de Santos (OS), oriunda de paleoambiente deposicional lacustre salino apresentou maior contribuição do esterano C_{27} . De forma geral, os modos de monitoramento demonstraram resultados com valores próximos entre si.

Figura 23 - Diagrama ternário em função da distribuição dos esteranos regulares (C_{27} , C_{28} e C_{29}) determinados pelo CG-EM/EM no modo SIM e MRM, obtidos dos extratos de rocha da Bacia de Parnaíba (a), da Bacia do Paraná (b) e dos óleos das Bacias Potiguar e Santos (c)



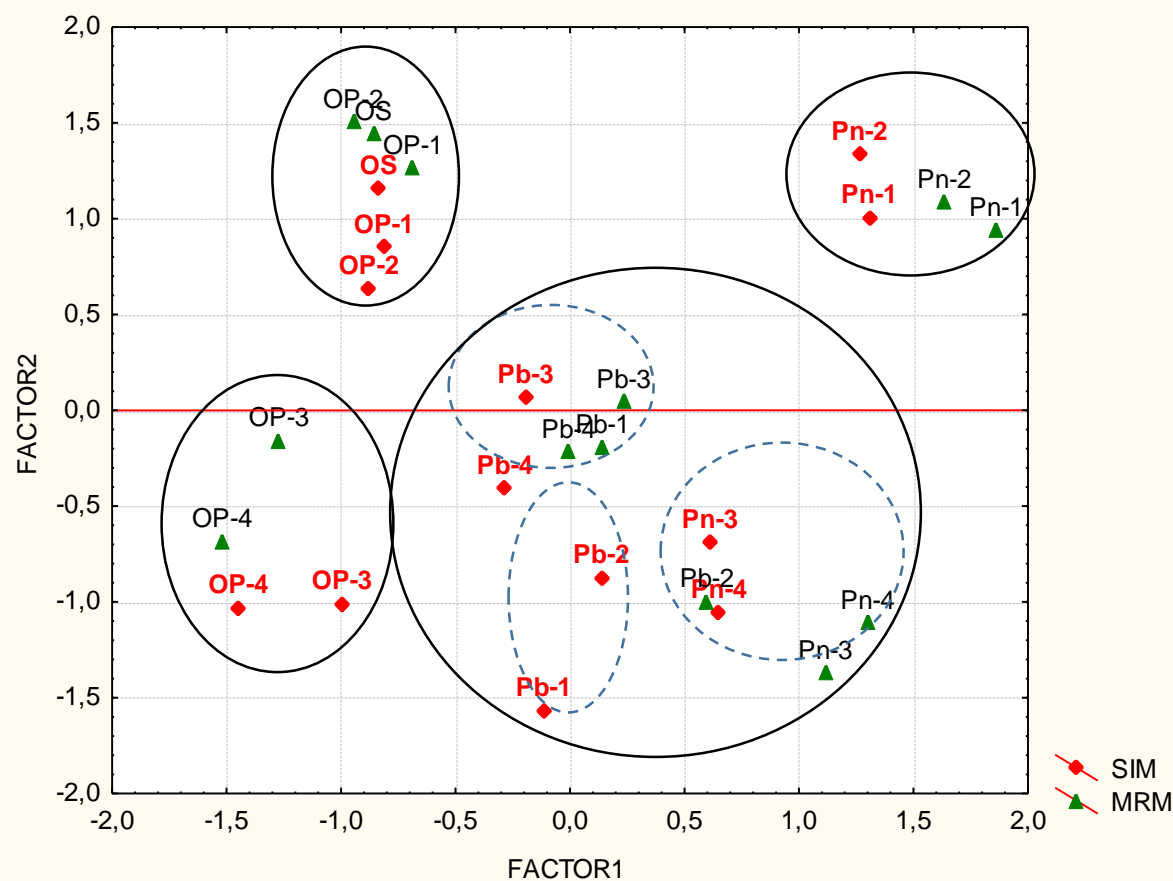


Razões diagnósticas como HOP/EST, TR/HOP, TET₂₄/TR₂₆, TR₂₆/TR₂₅, GAM/H₃₀, TET₂₄/H₃₀ também foram calculadas por Oliveira et al. (2012) utilizando CG-EM convencional e a cromatografia bidimensional, apontando diferenças significativas entre as razões sugeridos pela coeluição do modo convencional e pela melhor sensibilidade atribuída a técnica de alta resolução. Já no trabalho de Qian et al., (2017) utilizaram as razões diagnósticas de tricíclicos, tetracíclicos e pentacíclicos avaliando o efeito das energias de colisão e através de uma comparativo entre CG-EM e GC-EM/EM, verificaram que as razões apresentaram diferenças nos seus valores.

5.3.4 Análise estatística multivariada dos dados de biomarcadores

A avaliação detalhada dos compostos e das razões estudadas evidenciou a necessidade de se usar uma ferramenta estatística para melhor interpretar os dados gerados. A análise das Componentes Principais (ACP) (Figura 12) das razões diagnósticas de biomarcadores saturados foi realizada considerando as amostras de óleo e de extratos de rochas geradoras no modo SIM e no modo MRM, a fim de verificar se as diferenças encontradas em ambos os métodos seriam significativas. O gráfico da ACP mostrou que a primeira e a segunda componentes explicaram 48 % da variabilidade dos dados. A primeira componente (CP1) explicou 29 % e a segunda componente (CP2) explicou 19 %.

Figura 24- Análise das Componentes Principais (ACP)



Através da análise das componentes principais observa-se que houve diferenças significativas entre os dois modos de monitoramentos empregados neste trabalho. O gráfico mostrou que para as amostras analisadas no modo MRM houve um distanciamento pela componente principal. Com a finalidade de confirmar tal observação, foi realizado um teste t pareado, com os escores da própria componente principal, cujos resultados mostraram que as razões diagnósticas para os dois modos de monitoramento apresentaram diferenças significativas no nível de 95% de confiança (Apêndice D).

Além disso, pela análise das componentes foi possível observar a formação de quatro grupos correlacionando-os com os diferentes tipos de paleoambientes deposicional da rocha geradora, sendo que no eixo positivo da CP1 encontram-se as amostras provenientes da bacia do Paraná (Pn) e na região negativa foram projetadas as amostras de óleo bruto, provenientes das bacias Potiguar (OP) e Santos (OS). No centro do gráfico, foram projetadas as amostras da bacia do Parnaíba (Pb).

As amostras Pn subdividiram-se em dois grupos, quando analisados pelos eixos de CP2. No eixo positivo foram projetadas Pn-1 e Pn-2, cuja matéria orgânica é de origem marinha depositada em ambiente marinho hipersalino anóxico a subóxico, enquanto que

no eixo negativo, foram projetadas Pn-3 e Pn-4, características de matéria orgânica marinha, com aporte de organismos de água doce/salobra. No eixo positivo da CP2 foram projetadas as amostras cuja rocha geradora foi depositada no paleoambiente marinho evaporítico (OP-1 e OP-2) e lacustre salgado (OS) e na região negativa, encontram-se aquelas depositadas no paleoambiente lacustre doce (OP-3 e OP-4). Pela análise da CP2, nota-se a subdivisão de outros dois subgrupos, referentes as amostras Pb-1 e Pb-2, os quais foram projetados no eixo negativo e são caracterizadas pela matéria orgânica mista com predomínio terrestre, com aportes de organismo de água doce/salobra, depositados sob condições sub-óxica a óxicas. Já as amostras Pb-3 e Pb-4 foram projetadas no centro do gráfico mostrando correlação com as amostras com características de matéria orgânica mista com com aportes de organismos de água doce/salobra, assim como, uma ligeira projeção ao eixo positivo de CP2, onde estão localizadas as amostras de origem marinha, pois estas amostras tem a matéria orgânica de origem mista caracterizada pelo aporte terrestre e contribuição marinha (algas).

5.3.5 Comparação entre os resultados das razões diagnósticas obtidos pelos modos SIM e o MRM da análise por CG-EM/EM

O presente trabalho teve como objetivo otimizar um método para análises simultânea de diversas classes de compostos dos biomarcadores saturados, como a família dos triterpanos, esteranos, diaesteranos e os tetracíclicos poliprenoides, através da técnica da CG-EM/EM no modo MRM, comparando os resultados obtidos com as mesmas análises no modo SIM, o que significa que o CG-EM/EM foi programado para atuar como um CG-EM e permitiu uma comparação qualitativa dos resultados pelas duas técnicas.

Conforme relatado no texto, não houve um comportamento padrão ou uma tendência de aumento ou diminuição específica quando se usou o modo de operação SIM ou para o modo de operação MRM para todas as amostras. Este fato pode ser explicado pela composição das matrizes, pois empregou-se tanto extratos de rocha geradora quanto óleo, provenientes de paleoambientes deposicionais diferentes. Em algumas amostras pode-se observar um maior número de isômeros ou de hidrocarbonetos que coeluem no modo SIM e, com isso, o resultado da análise no modo MRM, mostrou um valor mais baixo, pois neste modo, há uma seletividade maior, conferida pelo íon produto.

Nos casos onde não há coeluições, a área obtida pelo modo MRM tende a ser maior, quando comparada ao modo SIM, pois a sensibilidade (também conferida pelo íon

produto) é maior. Entretanto, essa explicação é válida para o princípio da técnica. Nas amostras em estudo há a composição da matriz e para avaliar com confiabilidade os resultados, faz-se necessário o uso de padrões analíticos, os quais não foram usados.

Outro fato que deve ser destacado nesta pesquisa é que a comparação foi realizada com base nas razões diagnósticas, que são utilizadas na geoquímica para avaliar e correlacionar petróleos e rochas geradoras. No entanto, deve ser considerado que as razões diagnósticas utilizadas foram desenvolvidas com base nos monitoramentos no modo SIM, logo este comparativo se manteve no âmbito das tendências de variações dos valores para as razões observadas. Não há, até o momento, na literatura científica, dados de razões diagnósticas feitas especificamente para o modo MRM, os estudos que usam o modo MRM, também tem se baseado nas razões SIM.

A estatística multivariada aplicada permitiu mostrar diferenças significativas entre as técnicas e proporcionar um entendimento geral do comportamento das amostras (item 5.3.4). Contudo, essa ferramenta não determina qual a melhor técnica ser utilizada. Por isso, este comportamento foi evidenciado pelas características de cada modo de operação, conforme já relatado.

5.4 CONCLUSÕES

Os extratos de rochas geradora e óleo bruto que foram analisados pela CG-EM/EM através do monitoramento do modo SIM mostraram-se de acordo com os paleoambientes deposicionais classificados em trabalhos anteriores. No entanto, alguns compostos biomarcadores saturados das séries dos tricíclicos, homohopanos e esteranos apresentaram diferenças quando submetidos a comparação entre os cromatogramas entre os dois modos de obtenção, SIM e MRM, sendo corroborados pelas diferenças nos valores das razões diagnósticas empregadas nas avaliações físico-químicas dos paleoambientes deposicionais.

O estudo comparativo mostrou que os compostos biomarcadores determinados pela análise cromatográfica se comportaram de maneiras distintas quando houve variações nos paleoambiente, maturação ou concentrações entre as amostras. Ficou evidenciado que em relação as razões diagnósticas de paleoambiente deposicional, as amostras imaturas de extratos de rochas geradora apresentaram maiores diferenças em relação a utilização de técnicas mais sensíveis, sugerindo que para este tipo de amostras,

a utilização do CG-EM/EM no modo MRM oferece maior confiança analítica sobre os resultados.

A utilização de uma ferramenta estatística forneceu um maior esclarecimento geral do estudo, sugerindo o mesmo comportamento de separação para todas as amostras, de acordo com os seus paleoambientes deposicionais, entretanto, apresentando diferenças significativas entre os dois modos de monitoramento confirmados pelo teste t pareado. O que se pode concluir que o modo MRM fornece respostas mais confiáveis sobre as razões diagnósticas em relação ao modo SIM, resolvendo problemas de coeluição, porém nesses casos não influenciou o diagnóstico geral para as amostras estudadas.

5 CONCLUSÃO

Este estudo apresentou uma otimização do método de análise cromatográfica da CG-EM/EM no modo MRM para determinação dos principais compostos biomarcadores saturados do petróleo em amostras de extratos de rochas geradoras, assim como de óleo bruto, provenientes de diversas bacias sedimentares brasileiras, como as Bacias do Paraná, Parnaíba, Potiguar e Santos. Além disso, apresentou uma comparação qualitativa entre análises nos modos SIM e MRM com base nos cromatogramas de massas e os resultados das razões diagnósticas aplicadas nas avaliações de paleoambiente deposicional, bem como um comparativo geral das amostras através do uso de ferramentas estatísticas multivariadas com base nas razões diagnósticas.

Os resultados das análises cromatográficas, no modo SIM e MRM, mostraram que houve diferenças entre os dois modos, com relação a resolução de determinados compostos, assim como na tendência de aumento ou diminuição de razões diagnósticas amplamente empregadas nas avaliações de paleoambiente deposicional.

Razões diagnósticas de paleoambiente deposicional tais como GAM/H30, C35/HHI, TET24/H30, TET24/TRI26, TRI23/TRI24, TRI19/TRI23, HOP/EST, TRI21/TRI23, TRI26/TRI28, TR23/H30 apresentaram diferenças significativas como base na análise estatística pelo teste t pareado, realizadas com base em todas as razões avaliadas no modo SIM e MRM.

A técnica da CG-EM/EM no modo MRM mostrou-se mais precisa para o grupo de amostras de extratos de rochas do que para os óleos, quando avaliados em relação as razões diagnósticas de paleoambiente, sugerindo que para esses casos de amostras sejam empregadas técnicas mais sensíveis como o GC-EM/EM no modo MRM. Entretanto, para amostras que apresentem maior grau de maturidade, como no caso dos óleos estudados, também, recomenda-se o uso CG-EM/EM no modo MRM para família dos esteranos, pois nesse tipo de amostras, razões do tipo HOP/EST apresentaram maiores discrepâncias em comparação com outras amostras

. As análises estatísticas aplicadas nesse estudo, como ACP e teste t, corroboraram com as análises qualitativas, posto que de modo geral as amostras se agruparam de acordo com seus paleoambientes deposicionais, mostrando diferenças significativas entre os modos de monitoramento utilizados.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, P. L.; WONG, R. L.; OVERTON, E. B. Application of enhanced gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry for monitoring petroleum weathering and forensic source fingerprinting in samples impacted by the Deepwater Horizon oil spill. **Chemosphere**, v. 184, p. 939-950, 2017.
- ALVES, J. C.; ARAUJO, R. G. O.; SOUZA, E. S.; SOARES, S. A.R.; CERQUEIRA, J. R.; GARCIA, K. S.; QUEIROZ, A. F. S.; VALE, M. G. R.; BORGES, A. R. Correlações geoquímicas entre amostras de petróleo da bacia potiguar e definição de suas possíveis rochas geradoras. **Química Nova**, v. 41, n. 4, p. 417-428, 2018.
- ALVES, J. C. **Caracterização geoquímica de amostras de petróleo provenientes da bacia Potiguar, Brasil**. 2016. 72 f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente). Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.
- BAYONA, J. M.; CDOMÍNGUEZ, C.; ALBAIGÉS, J. Analytical developments for oil spill fingerprinting. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 5, p. 26-34, 2015.
- BAYDJANOVA, S.; GEORGE, S. C. Depositional environment, organic matter sources, and variable 17a(H)-diahopane distribution in Early Permian samples, southern Sydney Basin, Australia. **Organic Geochemistry**, v. 131, p. 60–75, 2019.
- BERTHOD, A.; WANG, X.; GAHM, K. H.; ARMSTRONG, D. W. Determinação quantitativa e estereoisomérica de biomarcadores leves em amostras de petróleo e carvão. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 62, p. 1619-1630, 1998.
- BISSADA, A.; TAN, J.; SZYMCZYK, E.; DARNELL, M.; MEI, M. Group-type characterization of crude oil and bitumen. Part I: enhanced separation and quantification of saturates, aromatics, resins and asphaltenes (SARA). **Organic Geochemistry**, v. 95, p. 21-28, 2016.
- BOJESSEN-KOEFOED, J. A.; NYTOFT, H. P.; DAU, N. T. Petroleum composition in the Cuu Long Basin (Mekong Basin) offshore southern Vietnam. **Marine and Petroleum Geology**, v. 26, n. 6, p. 899-908, 2009. **Marine and Petroleum Geology**, v. 96, p. 577-590, 2009.
- CHENG, B.; CHEN, Z.; CHEN, T.; YANG, C.; WANG, T.-G. Biomarker signatures of the Ediacaran–Early Cambrian origin petroleum from the central Sichuan Basin, South China: Implications for source rock characteristics. **Marine and Petroleum Geology**, v. 96, p. 577–590, 2018.
- CHURLEY, M.; PREST, H.; ZINNIKER, D. A.; BLATT, C. Enhanced sensitivity for biomarker characterization in petroleum using triple quadrupole GC/MS and backflushin. **Application Note Environmental USA**: Agilent Technologies Inc, 2009.

CRISTALE, J.; SILVA, F. S.; MARCH, M. R. R. Desenvolvimento e aplicação de método GC-MS/MS para análise simultânea de 17 HPAs em material particulado atmosférico. **Eclética Química**, v. 33, n.º. 4, p. 69-78, 2008.

DE GRANDE, S. M. B.; AQUINO NETO, F. R.; MELLO, M. R. Extended tricyclic terpanes in sediments and petroleums. **Organic Geochemistry**, v. 20, No. 7, p. 1039-1047, 1993.

FINGAS, Mervin. **Oil Spill Science and Technology: Introduction to oil chemical analysis**. Burlington: Elsevier, 2011.

FOWLER, M. G.; BROOK, P. W. Organic geochemistry as an aid in the interpretation of the history of oil migration into different reservoirs at the Hibernia K-18 and Ben Nevis 1-45 wells, Jeanne d'Arc Basin, offshore eastern Canada. **Organic Geochemistry**, v. 16, n.º. 1-3, p. 461-475, 1990.

GRAYSON, M. A. A History of Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS). In: NIER, K. A.; YERGEY, A. L.; GALE, P. J. **The encyclopedia of mass spectrometry**. Reino Unido: Elsevier, 2016. v. 9, p. 152–158.

HOLBA, A.G.; ELLIS, L.; TEGELAAR, E.; SINGLETARY, M. S.; ALBRECHT, P. Tetracyclic polyprenoids: indicators of fresh water (lacustrine) algal input. **Geology**, v. 28, N. 3, p. 251-254, 2000.

HOLBA, A. G.; DZOU, L. I.; WOOD, G. D.; ELLIS, L.; ADAM P.; SCHAEFFER, P.; ALBRECHT, P.; GREENE, T.; HUGHES, W. B. Application of tetracyclic polyprenoids as indicators of input from fresh-brackish water environments. **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 441–469, 2003.

HUANG, H.; ZHANG, S.; SU, J. Geochemistry of tri- and tetracyclic terpanes in the palaeozoic oils from the Tarim Basin, Northwest China. **Energy Fuels**, v. 29, p. 7014–7025, 2015.

HUANG, W. Y.; MEINSCHEN, W. G. Sterols as ecological indicators. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 43, n. 5, p. 739-745, 1979.

JOHN, G. F.; YIN, F.; MULABAGAL, V.; HAYWORTH, J. S.; CLEMENT, T. P. Development and application of an analytical method using gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry for characterizing alkylated chrysenes in crude oil samples. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 28, p. 948–956, 2014.

KLEMME, H. D. Petroleum basins-classifications and characteristics. **Journal of Petroleum Geology**, v. 3, n. 2, p. 187-207, 1980.

LIU, H.; ZHANG, M.; LI, X. Genesis study of high abundant 17 α (H)-diahopanes in Lower Cretaceous lacustrine source rocks of the Lishu Fault Depression, Songliao Basin, Northeast China. . **Chinese Journal of Geochemistry**, v. 33 p. 201–206, 2014.

LI, H.; JIANG, L.; CHEN, X.; ZHANG, M. Identification of the four rearranged hopane series in geological bodies and their geochemical significances. **Chinese Journal of Geochemistry**, n. 4 v. 34, p. 550–557, 2015.

MARTINS, C. C.; DOUMER, M. E.; GALLICE, W. C.; DAUNER, A. L.; CABRAL, A.; CARDOSO, F. D.; DOLCI, N. N.; CAMARGO, L. M.; FERREIRA, P. A. L.; FIGUEIRA, R. C. L.; MANGRICH, A. **Environmental Pollution**, v. 205, p. 403 – 414, 2015.

MARTINS, C. M. S. **Avaliação do efeito térmico de intrusões de diabásio sobre o querogênio presente em amostras de folhelhos negros coletadas em afloramentos da formação Irati (Permiano), bacia do Paraná-Brasil**. 2018. 101 f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente). Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018.

MARTINS-NETO, M. A. Classificação de bacias sedimentares: uma revisão comentada. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 36, n. 1, p. 165-176, 2006.

MATHUR, N. Tertiary oils from Upper Assam Basin, India: A geochemical study using terrigenous biomarkers. **Organic Geochemistry**, v. 76, p. 9-25, 2014.

MEI, M.; BISSADA, K. K.; MALLOY, T. B.; DARNELL, L. M.; SZYMCIK, E. B. Improved method for simultaneous determination of saturated and aromatic biomarkers, organosulfur compounds and diamondoids in crude oils by GC-MS/MS. **Organic Geochemistry**, v. 116, p. 35–50, 2018.

MILANI, E.J.; BRANDÃO, J.A.S.L.; ZALÁN, P.V.; GAMBOA, L.A.P. Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 18, n. 3, p. 351-396, 2000.

MILANI, E. J.; DE MELO, J. H. G.; DE SOUZA, P. A. FERNANDES, L. A.; A. B.FRANÇA. Bacia do Paraná. **Boletim de Geociências**, v. 15, n. 2, p. 265-287, 2007.

MOLDOWAN, J. M.; SEIFERT, W. K. ARNOLD, E.; CLARDY, J. Structure proof and significance of stereoisomeric 28,30-bisnorhopanes in petroleum and petroleum source rocks. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 48, p. 1651-1661, 1984.

Geochimica et Cosmochimica Acta, Volume 48, Issue 8, August 1984, Pages 1651-1661

MULABAGAL, V.; YIN, F.; JOHN, G. F.; HAYWORTH, J. S.; CLEMENT, T. P. Chemical fingerprinting of petroleum biomarkers in Deepwater Horizon oil spill samples collected from Alabama shoreline. **Marine Pollution Bulletin**, v. 70, p 147 – 154, 2013.

NELSON, R. K.; AEPPLI, C.; AREY, J. S.; CHEN, H.; OLIVEIRA, A. H. B.; EISERBECK, C.; FRYSSINGER, G. S.; GAINES, R. B.; GRICE, K.; GROS, J.; HALL, G. J.; KOOLEN, H. H. F.; LEMKAU, K. L.; MCKENNA, A. M; REDDY, C. M.; RODGERS, R. P.; SWARTHOUT, R. F.; VALENTINE, D. L.; WHITE, H. K. Applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC × GC) in studying the source, transport, and fate of petroleum hydrocarbons in the environment. In: STOUT, S.; WANG, Z. **Standard handbook oil spill environmental forensics**. 2^a Edição. Reino Unido: Academic Press Elsevier Inc, 2016. P. 399–448.

OKUNOVA, T. V.; BADMAEV, CH. M.; GIRUTS, M. V.; ERDNIEVA, O. G.; KOSHELEV, V. N; GORDADZE, G. N. Characteristics of the distribution of bi-, tri-,

tetra-, and pentacyclic terpanes in kalmykia crude oils. **Chemistry and Technology of Fuels and Oils**, v. 46, No. 2, 2010.

OLIVEIRA, C. R.; FERREIRA, A. A.; OLIVEIRA, C. J. F.; AZEVEDO, D. A.; NETO, E. V. S.; NETO, F. R. A. Biomarkers in crude oil revealed by comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry: depositional paleoenvironment proxies. **Organic Geochemistry**, v. 46, p. 154-164, 2012.

PETERS, K. E.; WALTERS, C. C.; MOLDOWAN, J. M. The biomarker guide, biomarkers and isotopes in petroleum exploration and earth history. Edição 2. New York: **Cambridge University Press**, 2005.

PETERS, K. E.; WALTERS, C. C.; MOLDOWAN, J. M. The biomarker guide, biomarkers and isotopes in the environment and human history. Vol. 2. Edição 2. New York: **Cambridge University Press**, 2005.

PETERS, K. E.; MOLDOWAN, J. M.; LACROCE, M. V.; KUBICKI, J. D. Stereochemistry, elution order and molecular modeling of four diaergostanes in petroleum. **Organic Geochemistry**, v. 76, p. 1–8, 2014.

PETERSEN, H. I.; NYTOFT, H. P.; NIELSEN, L. H. Characterisation of oil and potential source rocks in the northeastern Song Hong Basin, Vietnam: indications of a lacustrine-coal sourced petroleum system. **Organic Geochemistry**, v. 35, n. 4, p. 493-515, 2004.

PHILP, R. P.; OUNG, J. Biomarkers: occurrence, utility, and detection. **Analytical chemistry**, v. 60, No. 15p. 887A-896A, 1988.

PHILP, R. P.; OUNG, J.; LEWIS, C. A. Biomarker determinations in crude oils using a triple-stage quadrupole mass spectrometer. **Journal of Chromatography**, v. 446, p. 316, 1988.

PHILP, R. P.; OUNG, J.; YU, C. P.; LEWIS, S. The determination of biomarker distributions by tandem mass spectrometry. **Organic Geochemistry**, v. 16, No. 4-6, p. 1211-1220, 1990.

RANGEL, A.; C, OSORNO, J. F.; RAMIREZ, J. C; DE BEDOUT, J.; GONZÁLEZ, J. L.; PABÓN, J. M. Geochemical assessment of the Colombian oils based on bulk petroleum properties and biomarker parameters. **Marine and Petroleum Geology**, v. 86, p.1291-1309, 2017.

DOS REIS, D. E. S.; Rodrigues, R.; Moldowan, J. M.; Jones, C. M.; Brito, M.; Cavalcante, D. C.; Portela, H. A. Biomarkers stratigraphy of Irati Formation (Lower Permian) in the Southern portion of Paraná Basin (Brazil). **Marine and Petroleum Geology**, v. 95, p. 110–138, 2018.

REYES, C. Y. **Simulação do intemperismo em mesocosmos para petróleos brasileiros**. 2015, 284 f. Tese (Doutorado em Geologia Ambiental e dos Recursos Hídricos). Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

REYES, C. Y.; MOREIRA, I. T. A.; OLIVEIRA, D. A. F.; MEDEIROS, N. C.; ALMEIDA, M.; WANDEGA, F.; SOARES, S. A. R.; OLIVEIRA, O. M. C.

Weathering of petroleum biomarkers: review in tropical marine environment impacts. **Open Access Library Journal**, v. 1, 2014.

SAITO, R.; KAIHO, K.; OBA, M.; TONG, J.; CHEN, Z-Q.; TAKAHASHI, S.; CHEN, J.; TIAN, L.; BISWAS, R. K. Secular changes in environmental stresses and eukaryotes during the Early Triassic to the early Middle Triassic. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 451, p. 35-45, 2016.

SEFEIN, K. J.; NGUYEN, T. X.; PHILP, R. P. Organic geochemical and paleoenvironmental characterization of the Brown Shale Formation, Kiliran sub-basin, Central Sumatra Basin, Indonesia. *Organic Geochemistry*, v. 112, p. 137-157, 2017.

SEIFERT, W. K.; MOLDOWAN, J. M. Paleoreconstruction by biological markers. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 45, p. 783-794, 1981.

SIMONEIT, B. R.T. A review of current applications of mass spectrometry for biomarker/molecular tracer elucidations. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 24, p. 719–765, 2005.

SPEIGHT, James G. **The Chemistry and Technology of Petroleum**. 5. ed. Boca Raton: Crc Press Taylor & Francis Group, 2014.

THEOBALD, F.; HUEBSCHMANN, H. J. Analysis of molecular fossils: crude oil steroid biomarker characterization using triple quadrupole GC-MS/MS. Application Note: 10261. **Thermo Fisher Scientific**, 2008.

THOMAS, J. E. (Org.). **Fundamentos de engenharia de petróleo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2001.

TISSOT, B. P.; WELTE, D. H. **Petroleum formation and occurrence**. Second revised and enlarged edition. Springer- Verlag Berlin Heidelberg, 1984.

VAZ, P. T.; REZENDE, N. G. A. M.; WANDERLEY FILHO, J. R.; TRAVASSOS, W. A. S. Bacia do Parnaíba. **Boletim de Geociências da Petrobras**, v. 15, n. 2, p. 253-263, 2007

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

WANG, Z.; FINGAS, M.; PAGE, D. S. Oil spill identification. **Journal of Chromatography A**, v.843, p. 369-411, 1999.

YANG, C.; BROWN, C. E.; HOLLEBONE; YANG, Z.; LAMBERT, P.; FIELDHOUSE, B.; LANDRIAULT, M.; WAN, Z. Chemical fingerprints of crude oils and petroleum products. In: FINGAS, M. **Oil Spill Science and Technology**. 2ª edição. Local: Elsevier Inc, 2017. p. 209-304.

ZALÁN, P. V. Evolução fanerozóica das bacias sedimentares brasileiras. In: MANTESSO-NETO, V.; BARTORELLI, A.; CARNEIRO, C. D. R.; BRITO-NEVES, B. B. Geologia do continente sul-americano: evolução da obra de Fernando Flávio Marques de Almeida. São Paulo: Beca Produções Culturais Ltda., 2004. p. 595-612.

ZAMBRANO, E. R. N. **Potencial gerador da formação Pimenteiras (Devoniano), bacia do Parnaíba, estado do Tocantins, e aplicação de biomarcadores saturados como indicadores de eventos de inundação marinha.** 2015. 109 f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente). Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

ZHANG, H.; YIN, X.; ZHOU, H.; WANG, J.; HAN, L. Weathering characteristics of crude oils from Dalian oil spill accident, China. **Aquatic Procedia**, v. 3, p. 238-244, 2015.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Cromatogramas obtidos no modo SIM para as amostras das Bacias do Paraná, Parnaíba, Potiguar e Santos.

Figura 25 – Cromatogramas de massas obtidos no modo SIM pelo monitoramento dos íons m/z 191 (a, b, c, d), m/z 217 (e, f, g, h) e m/z 259 (i, j, l, m) para as amostras da Bacia do Paraná

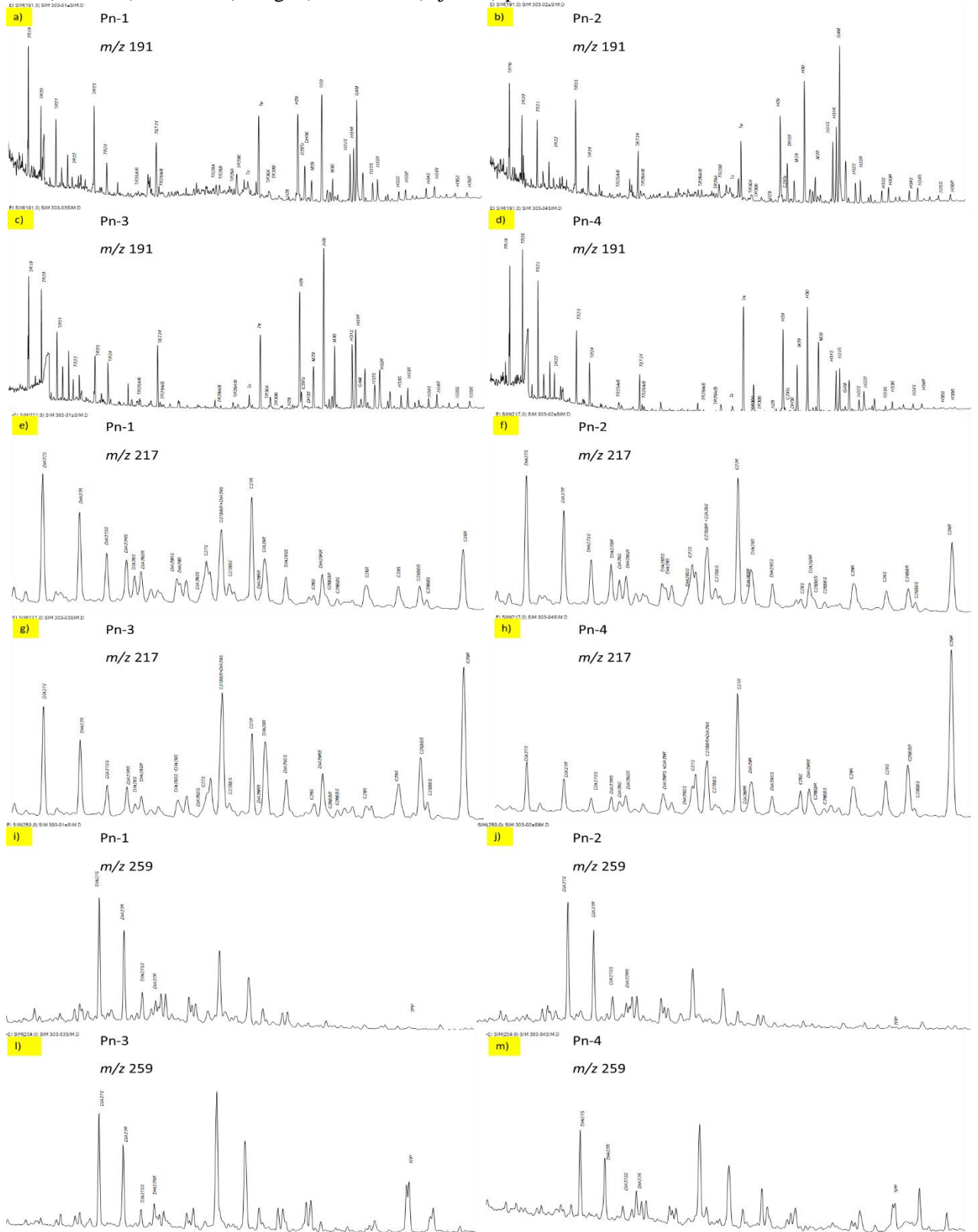


Figura 26 - Cromatogramas de massas obtidos no modo SIM pelo monitoramento dos íons m/z 191 (a, b, c, d), m/z 217 (e, f, g, h) e m/z 259 (i, j, l, m) para as amostras da Baía do Parnaíba

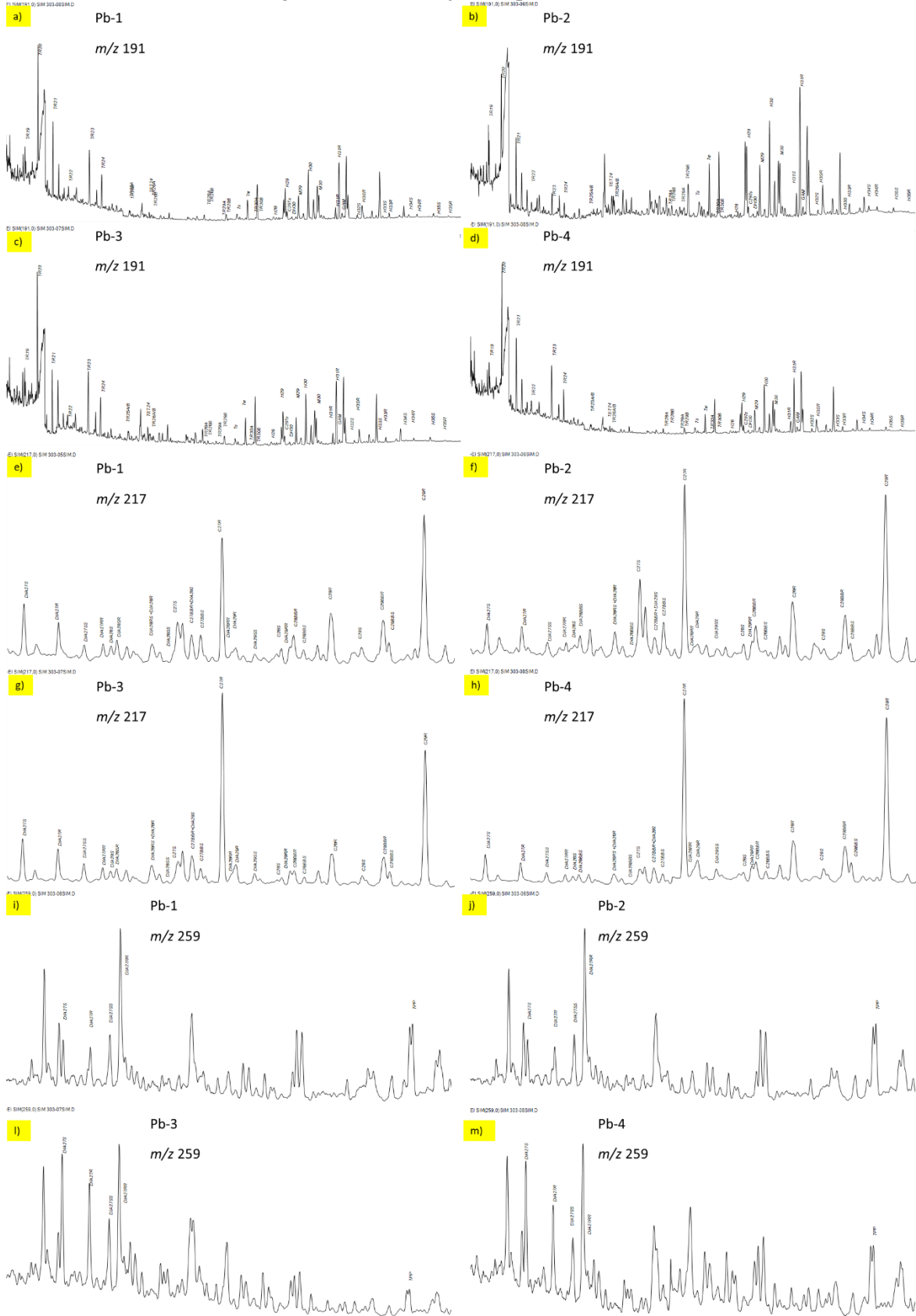
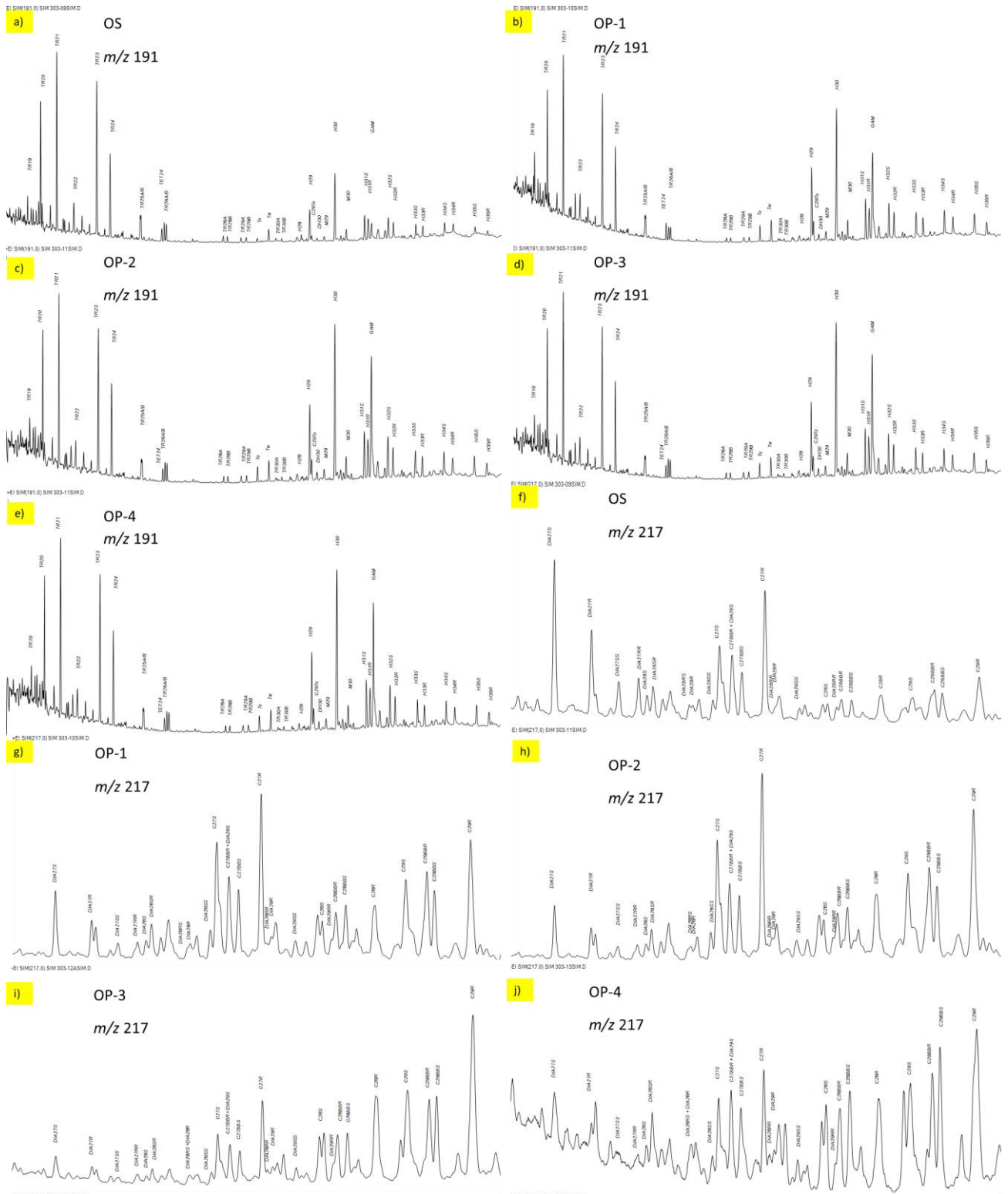
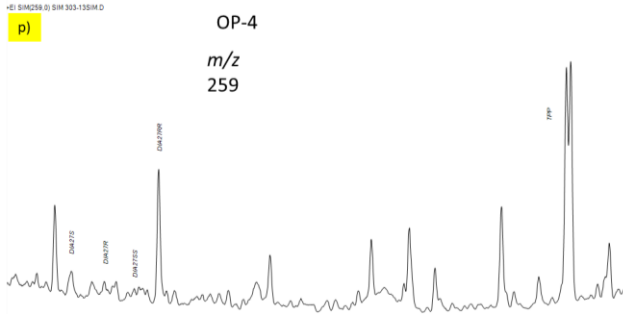
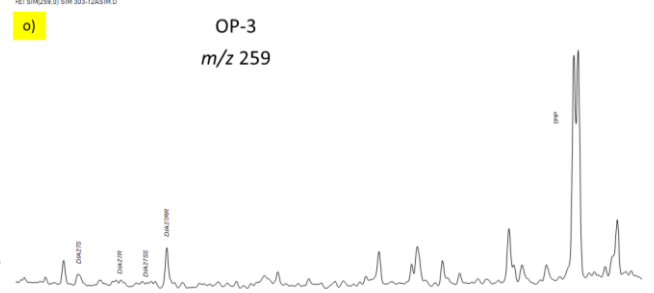
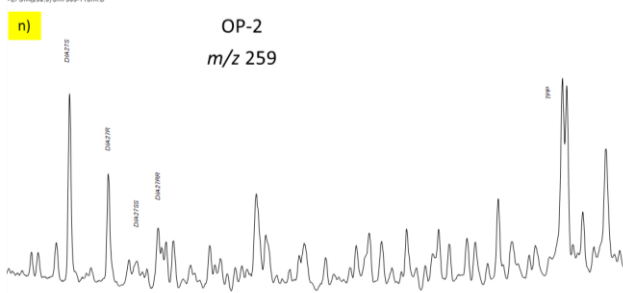
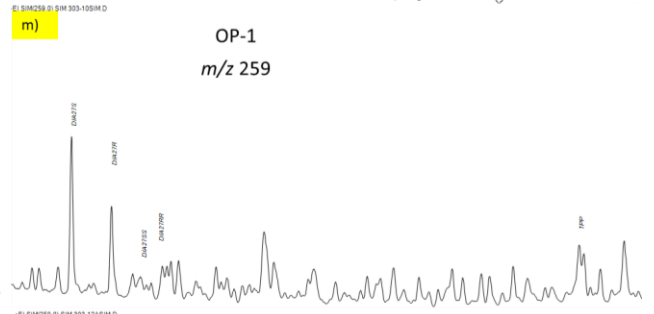
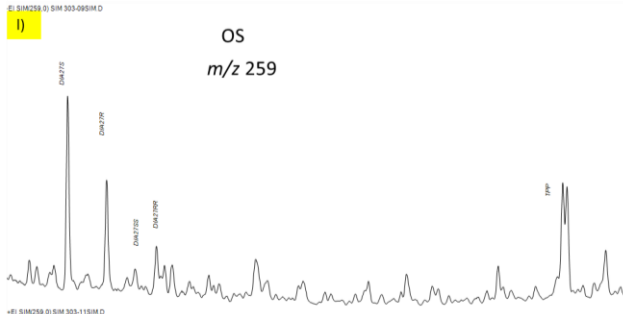


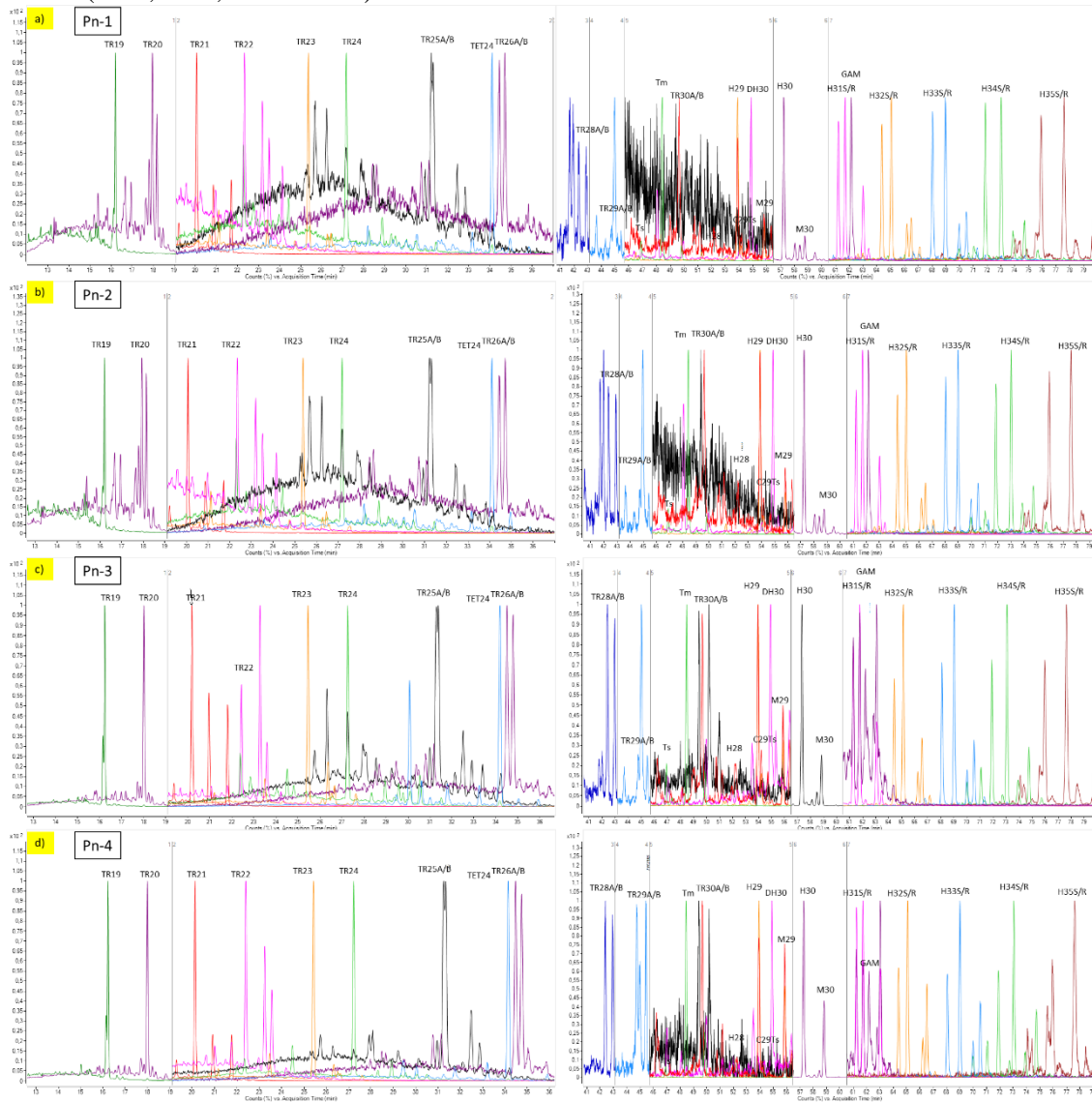
Figura 27 - Cromatogramas de massas obtidos no modo SIM pelo monitoramento dos íons m/z 191 (a, b, c, d), m/z 217 (e, f, g, h) e m/z 259 (i, j, l, m) para as amostras das Bacias Potiguar e Santos





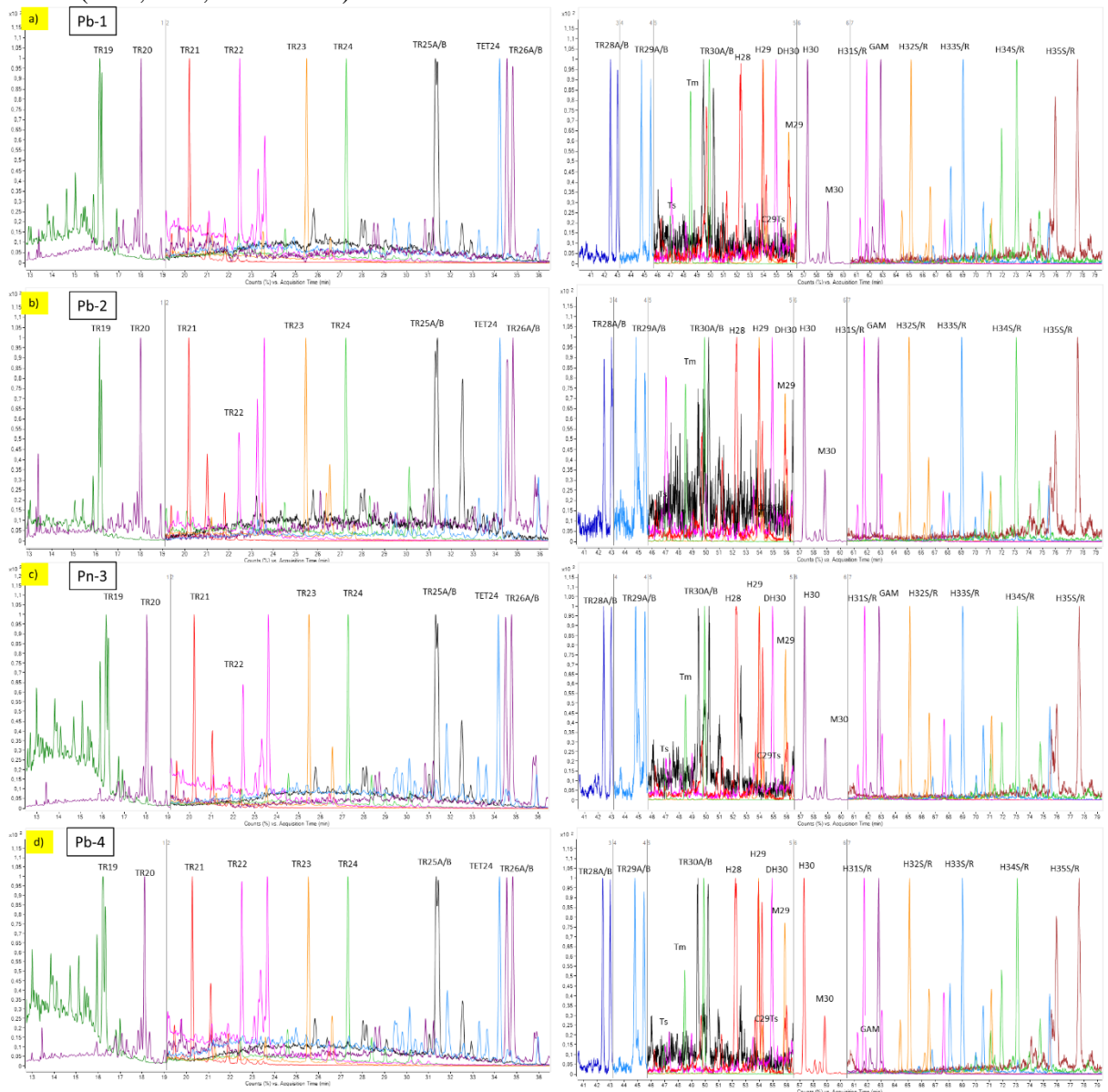
APÊNDICE B: Cromatogramas obtidos no modo MRM para as amostras das Bacias do Paraná, Parnaíba, Potiguar e Santos.

Figura 28 - Cromatogramas de massas obtidos no modo MRM para as amostras da Bacia do Paraná (Pn-1, Pn-2, Pn-3 e Pn-4)



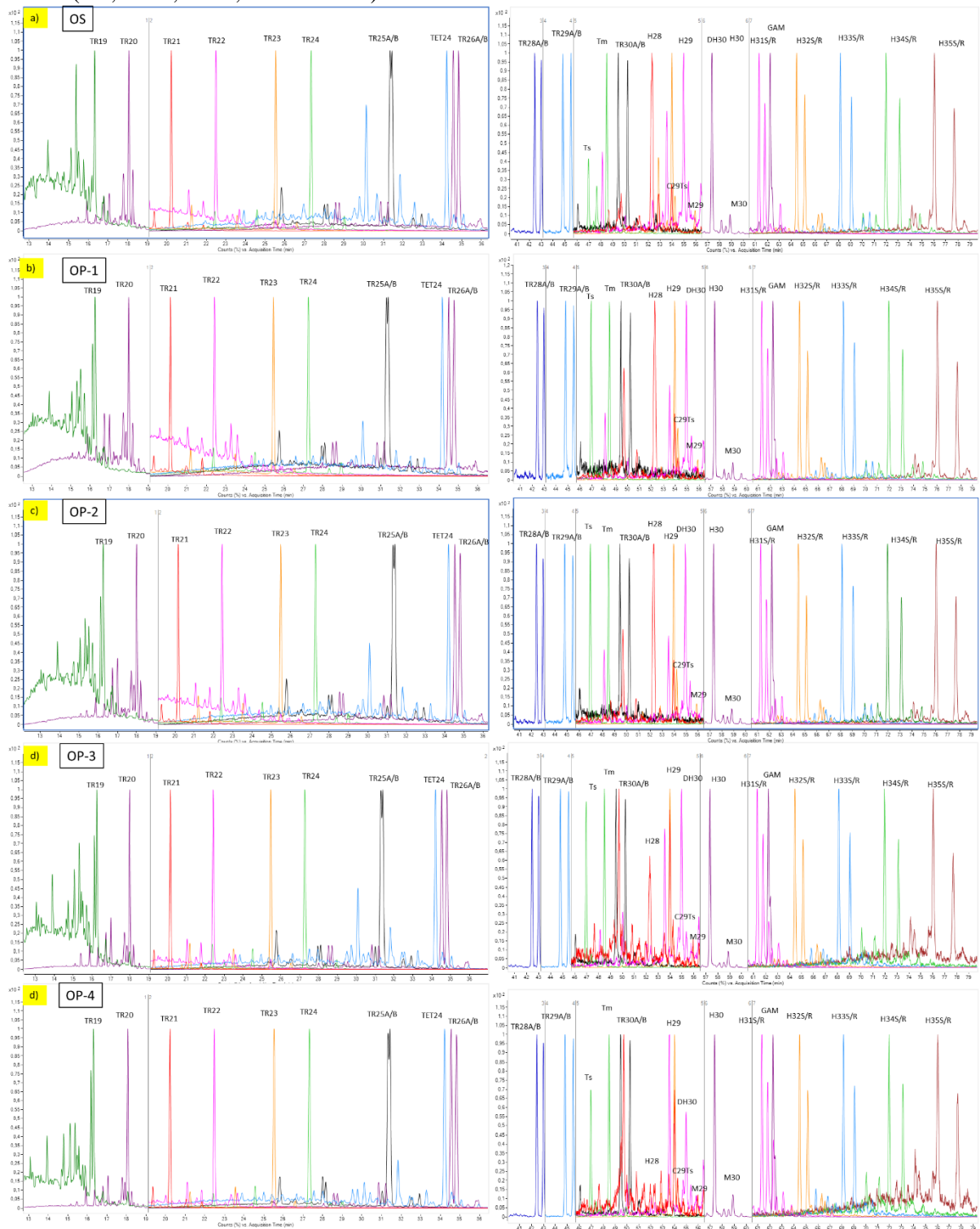
Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3 \rightarrow 191,2); TR20 (m/z 276,3 \rightarrow 191,2); TR21 (m/z 290,3 \rightarrow 191,2); TR22 (m/z 304,3 \rightarrow 191,2); TR23 (m/z 318,3 \rightarrow 191,2); TR24 (m/z 332,3 \rightarrow 191,2); TR25A/B (m/z 346,4 \rightarrow 191,2); TET24 (m/z 330,3 \rightarrow 191,2); TR26A/B (m/z 360,4 \rightarrow 191,2); TR28A/B (m/z 388,4 \rightarrow 191,2); TR29A/B (m/z 402,4 \rightarrow 191,2); Ts/Tm (m/z 370,4 \rightarrow 191,2); TR30A/B (m/z 416,4 \rightarrow 191,2) H28 (m/z 384,4 \rightarrow 191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4 \rightarrow 191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4 \rightarrow 191,2); H31(S+R) (m/z 426,4 \rightarrow 191,2); H32(S+R) (m/z 440,4 \rightarrow 191,2); H33(S+R) (m/z 454,4 \rightarrow 191,2); H34(S+R) (m/z 468,5 \rightarrow 191,2); H35(S+R) (m/z 482,5 \rightarrow 191,2).

Figura 29 - Cromatogramas de massas obtidos no modo MRM para as amostras da Bacia do Paraná (Pb-1, Pb-2, Pb-3 e Pb-4)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3 \rightarrow 191,2); TR20 (m/z 276,3 \rightarrow 191,2); TR21 (m/z 290,3 \rightarrow 191,2); TR22 (m/z 304,3 \rightarrow 191,2); TR23 (m/z 318,3 \rightarrow 191,2); TR24 (m/z 332,3 \rightarrow 191,2); TR25A/B (m/z 346,4 \rightarrow 191,2); TET24 (m/z 330,3 \rightarrow 191,2); TR26A/B (m/z 360,4 \rightarrow 191,2); TR28A/B (m/z 388,4 \rightarrow 191,2); TR29A/B (m/z 402,4 \rightarrow 191,2); Ts/Tm (m/z 370,4 \rightarrow 191,2); TR30A/B (m/z 416,4 \rightarrow 191,2) H28 (m/z 384,4 \rightarrow 191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4 \rightarrow 191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4 \rightarrow 191,2); H31(S+R) (m/z 426,4 \rightarrow 191,2); H32(S+R) (m/z 440,4 \rightarrow 191,2); H33(S+R) (m/z 454,4 \rightarrow 191,2); H34(S+R) (m/z 468,5 \rightarrow 191,2); H35(S+R) (m/z 482,5 \rightarrow 191,2).

Figura 30 - Cromatogramas de massas obtidos no modo MRM para as amostras da Bacia do Paraná (OS, OP-1, OP-2, OP-3 e OP-4)



Trasições utilizadas no modo MRM para obtenção do compostos TR19 (m/z 262,3 \rightarrow 191,2); TR20 (m/z 276,3 \rightarrow 191,2); TR21 (m/z 290,3 \rightarrow 191,2); TR22 (m/z 304,3 \rightarrow 191,2); TR23 (m/z 318,3 \rightarrow 191,2); TR24 (m/z 332,3 \rightarrow 191,2); TR25A/B (m/z 346,4 \rightarrow 191,2); TET24 (m/z 330,3 \rightarrow 191,2); TR26A/B (m/z 360,4 \rightarrow 191,2); TR28A/B (m/z 388,4 \rightarrow 191,2); TR29A/B (m/z 402,4 \rightarrow 191,2); Ts/Tm (m/z 370,4 \rightarrow 191,2); TR30A/B (m/z 416,4 \rightarrow 191,2) H28 (m/z 384,4 \rightarrow 191,2); H29/ C29Ts/M29 (m/z 398,4 \rightarrow 191,2); DH30/H30/ M30/ GAM (m/z 412,4 \rightarrow 191,2); H31(S+R) (m/z 426,4 \rightarrow 191,2); H32(S+R) (m/z 440,4 \rightarrow 191,2); H33(S+R) (m/z 454,4 \rightarrow 191,2); H34(S+R) (m/z 468,5 \rightarrow 191,2); H35(S+R) (m/z 482,5 \rightarrow 191,2).

APÊNDICE C: Razões diagnósticas de biomarcadores calculadas em função das áreas integradas dos cromatogramas de massas obtidos pelo CG-EM/EM nos modos SIM e MRM para as amostras provenientes das Bacias do Paraná, Parnaíba, Potiguar e Santos

Tabela 1 – Resultados das razões diagnósticas calculadas em função das áreas integradas obtidas pela análise cromatográfica (CG-EM/EM) nos monitoramentos nos modos SIM e MRM

Amostras Razões/ Modo	Pn-1		Pn-2		Pn-3		Pn-4		Pb-1		Pb-2		Pb-3		Pb-4		OP-1		OP-2		OP-3		OP-4		OS	
	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM	SIM	MRM
GAM/H ₃₀ ^a	1,00	1,05	1,34	1,06	0,02	0,00	0,02	0,01	0,10	0,04	0,09	0,02	0,07	0,00	0,09	0,00	0,70	0,72	0,82	0,59	0,40	0,25	0,35	0,23	0,24	0,18
C ₃₅ HHI ^b	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,04	0,04	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,02	0,16	0,11	0,15	0,12	0,05	0,04	0,04	0,04	0,10	0,08
H ₃₅ /H ₃₄ ^c	0,49	0,50	0,58	0,58	0,60	0,52	0,46	0,36	0,43	0,53	0,21	0,34	0,54	0,63	0,49	0,63	1,03	0,84	0,99	0,93	0,55	0,55	0,28	0,53	0,70	0,64
H ₂₉ /H ₃₀ ^d	0,75	0,71	0,65	0,72	0,73	0,71	0,79	0,73	0,68	0,66	0,55	0,64	0,54	0,65	0,50	0,58	0,56	0,59	0,50	0,51	0,53	0,52	0,61	0,50	0,49	0,45
H ₂₈ /H ₂₉ ^e	0,02	0,00	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,04	0,06	0,04	0,07	0,15	0,17	0,14	0,17	0,09	0,11	0,12	0,17	0,02	0,12	0,01	0,01	0,18	0,24
TET ₂₄ /H ₃₀ ^f	0,49	0,59	0,37	0,49	0,32	0,29	0,29	0,41	0,16	0,32	0,15	0,21	0,21	0,33	0,09	0,23	0,10	0,16	0,07	0,22	0,07	0,15	0,23	0,19	0,16	0,18
TET ₂₄ /TR ₂₆ ^g	8,02	22,85	12,79	17,71	7,50	16,83	3,26	6,04	1,03	2,11	1,69	8,65	1,70	1,92	1,41	1,65	0,65	0,93	0,34	0,50	0,17	0,24	0,15	0,22	0,36	0,55
TR ₂₃ /TR ₂₄ ^h	2,97	3,72	3,43	3,54	0,90	2,92	1,50	2,70	1,25	1,96	1,42	2,48	1,51	1,87	1,59	2,00	1,56	1,66	1,49	1,55	1,46	1,64	1,41	1,60	1,83	1,75
TR ₁₉ /TR ₂₃ ⁱ	0,76	3,97	0,49	2,76	1,39	2,54	1,06	1,51	0,71	0,75	0,65	2,18	0,15	0,66	0,16	0,76	0,33	0,70	0,20	0,34	0,13	0,16	0,11	0,22	0,11	0,31
HOP/EST ^j	1,55	1,21	2,28	1,14	5,57	3,94	5,18	2,48	9,33	3,22	7,25	3,79	1,87	0,85	2,77	1,28	2,89	1,30	3,51	1,15	14,45	5,36	17,08	10,56	8,26	4,13
TR/HOP ^l	0,76	0,85	0,56	0,63	0,44	0,41	0,97	1,83	0,72	1,53	0,54	0,64	1,20	2,22	1,07	1,70	0,90	1,31	0,89	3,31	2,22	4,90	6,47	7,98	1,86	3,01
TR ₂₁ /TR ₂₃ ^m	0,54	1,96	0,53	1,95	1,18	1,63	1,40	1,64	1,67	1,59	2,42	3,71	0,76	1,20	1,05	1,12	1,06	1,37	1,18	1,54	1,27	1,58	1,15	0,22	0,93	1,60
TR ₂₄ /TR ₂₅ ⁿ	9,93	2,41	6,05	2,21	5,21	2,22	3,09	2,64	1,76	2,28	6,12	2,08	2,33	2,28	9,32	2,16	1,86	1,95	2,15	2,43	2,17	2,65	2,11	4,15	1,77	2,17
TR ₂₆ /TR ₂₅ ^o	2,71	0,76	1,01	0,86	0,98	0,68	0,89	0,74	0,93	0,76	4,68	0,72	0,49	0,70	1,25	0,71	0,64	0,70	0,96	0,95	1,27	1,33	1,31	1,35	0,82	0,73
TR ₂₆ /TR ₂₈ ^p	0,32	5,62	0,25	5,18	1,49	6,07	2,20	6,00	1,40	4,29	0,45	4,54	1,01	7,00	1,71	5,59	2,88	3,12	2,68	4,02	2,79	2,60	3,44	3,30	2,61	3,01
TR ₂₃ /H ₃₀ ^q	0,66	0,30	0,60	0,25	0,21	0,16	0,46	0,66	0,37	0,88	0,16	0,17	0,87	1,05	0,80	0,85	0,73	0,81	0,65	1,75	1,11	2,01	3,54	4,28	1,73	1,67
H ₂₈ /TR ₂₃ ^r	0,02	0,00	0,02	0,02	0,04	0,02	0,01	0,00	0,07	0,05	0,14	0,26	0,09	0,10	0,09	0,12	0,07	0,08	0,09	0,05	0,01	0,03	0,00	0,00	0,05	0,06
GAM/TR ₂₃ ^s	1,52	3,46	2,25	4,20	0,11	0,02	0,05	0,58	0,28	0,05	0,56	0,11	0,08	0,00	0,12	0,00	0,97	0,88	1,27	0,34	0,36	0,13	0,10	0,05	0,14	0,11
H ₂₉ /C ₂₉ Ts ^t	23,74	11,51	27,27	10,47	6,95	6,49	20,72	32,60	9,04	6,57	7,50	7,53	4,41	4,55	4,25	4,25	3,49	3,94	3,63	3,92	5,62	4,71	5,54	5,20	4,98	6,93
%C ₂₇ EST ^u	58,13	43,45	56,57	46,18	40,79	20,06	33,65	27,19	22,58	35,18	39,01	32,05	45,43	43,89	38,03	34,36	39,42	43,70	36,51	46,78	20,01	28,31	24,24	23,60	53,49	55,87
%C ₂₈ EST ^u	11,77	15,79	13,65	17,18	6,79	5,87	14,12	11,44	24,11	19,49	17,60	16,22	13,88	13,81	15,98	15,31	19,91	18,79	18,25	18,79	28,52	27,59	33,61	30,76	14,96	18,50

%C ₂₉ EST ^u	30,10	40,76	29,78	36,64	52,42	74,07	52,23	61,37	53,32	45,33	43,40	51,73	40,68	42,30	46,00	50,33	40,67	37,51	45,23	34,43	51,47	44,10	42,15	45,64	31,55	25,63
TPP ^v	0,01	0,01	0,01	0,01	0,30	0,43	0,21	0,23	0,46	0,37	0,48	0,60	0,12	0,13	0,28	0,25	0,27	0,21	0,49	0,29	0,46	0,78	0,72	0,86	0,39	0,44
%DIA ₂₇ ^x	50,60	54,18	55,69	57,16	37,53	35,45	33,88	38,34	30,12	60,24	51,80	50,92	48,19	50,11	41,92	49,88	40,21	59,20	39,60	62,83	33,63	49,42	31,67	39,20	64,60	71,60
%DIA ₂₈ ^x	10,49	9,47	10,66	9,82	6,30	3,59	15,40	7,87	12,15	12,85	9,64	10,01	18,62	11,32	17,65	11,98	13,33	14,16	10,39	13,25	19,06	20,48	24,40	24,00	10,18	8,98
%DIA ₂₉ ^x	38,91	36,35	33,65	33,03	56,17	60,97	50,72	53,79	57,72	26,90	38,56	39,07	33,19	38,57	40,43	38,14	46,46	26,64	50,00	23,92	47,31	30,10	43,93	36,80	25,22	19,43
Ts/(Ts+Tm) ^y	0,08	0,11	0,06	0,12	0,15	0,17	0,06	0,05	0,24	0,18	0,28	0,13	0,22	0,19	0,25	0,22	0,42	0,50	0,43	0,51	0,39	0,48	0,31	0,40	0,24	0,29
S/(S+R)C ₂₉ EST ^{za}	0,26	0,22	0,21	0,22	0,21	0,17	0,16	0,15	0,12	0,11	0,05	0,07	0,09	0,11	0,08	0,11	0,38	0,40	0,36	0,39	0,37	0,39	0,41	0,34	0,41	0,34
abb/(abb+aaa)C ₂₉ EST ^{zb}	0,26	0,29	0,22	0,27	0,27	0,32	0,23	0,26	0,25	0,27	0,19	0,28	0,22	0,27	0,20	0,27	0,42	0,45	0,40	0,42	0,27	0,36	0,53	0,39	0,38	0,43

^aGAM/H₃₀ (gamacerano/17α(H),21β(H)-hopano); ^bC₃₅ HHI (C₃₅/∑ C₃₁-C₃₅); ^cH₃₅/H₃₄ (17α(H),21β(H)-30,31,32,33,34-pentakishomohopano(22S+R)/ 17α(H),21β(H)-30,31,32,33-tetrakishomohopano(22S+R)); ^dH₂₉/H₃₀ (17α(H),18α(H),21β(H)-norhopano/17α(H),21β(H)-hopano); ^eH₂₈/H₂₉ (17α(H),18α(H),21β(H)-28,30-bisnorhopano/17α(H),18α(H),21β(H)-norhopano); ^fTET₂₄/H₃₀ (C₂₄ terpano tetracíclico/17α(H),21β(H)-hopano); ^gTET₂₄/TR₂₆ (C₂₄ terpano tetracíclico/ C₂₆ terpano tricíclico (α+β)); ^hTR₂₃/TR₂₄ (C₂₃ terpano tricíclico/ C₂₄ terpano tricíclico); ⁱTR₁₉/TR₂₃ (C₁₉ terpano tricíclico/ C₂₃ terpano tricíclico); ^jHOP/EST (∑(H₂₈+H₂₉+C₂₉Ts+H₃₀+H₃₁(S+R)+H₃₂(S+R)+H₃₃(S+R)+H₃₄(S+R)+H₃₅(S+R))/ ∑(C₂₇S+C₂₇BBR+C₂₇BBS+C₂₇R+C₂₈S+C₂₈BBR+C₂₈BBS+C₂₈R+C₂₉S+C₂₉BBR+C₂₉BBS+C₂₉R)); ^kTR/HOP (∑(TR₁₉+TR₂₀+TR₂₁+TR₂₂+TR₂₃+TR₂₄+TR₂₅A/B+TET₂₄+TR₂₆A/B+TR₂₈A/B+TR₂₉A/B+TR₃₀A/B)/ ∑(C₂₇S+ C₂₇BBR+ C₂₇BBS+ C₂₇R+ C₂₈S+ C₂₈BBR+ C₂₈BBS+ C₂₈R+ C₂₉S+ C₂₉BBR+C₂₉BBS+C₂₉R)); ^mTR₂₁/TR₂₃ (C₂₁ terpano tricíclico/ C₂₃ terpano tricíclico); ⁿTR₂₄/TR₂₅ (C₂₄ terpano tricíclico/ C₂₅ terpano tricíclico(α+β)); ^oTR₂₆/TR₂₅ (C₂₆ terpano tricíclico(α+β)/ C₂₅ terpano tricíclico(α+β)); ^pTR₂₆/TR₂₈ (C₂₆ terpano tricíclico(α+β)/ C₂₈ terpano tricíclico(α+β)); ^qTR₂₃/H₃₀ (C₂₃ terpano tricíclico/ 17α(H),21β(H)-hopano); ^rH₂₈/TR₂₃ (17α(H),18α(H),21β(H)-28,30-bisnorhopano/ C₂₃ terpano tricíclico); ^sGAM/TR₂₃ (gamacerano/ C₂₃ terpano tricíclico); ^tH₂₉/C₂₉Ts (17α(H),18α(H),21β(H)-norhopano/ 18α(H),21β(H)-30-norneohopano); ^u%C_{27,28,29}EST (∑(C₂₇S+ C₂₇BBR+ C₂₇BBS+ C₂₇R) / ∑ (C₂₇S+ C₂₇BBR+ C₂₇BBS+ C₂₇R+ C₂₈S+ C₂₈BBR+ C₂₈BBS+ C₂₈R+ C₂₉S+ C₂₉BBR+ C₂₉BBS+ C₂₉R)*100); ^vTPP (TPP/ ∑(TPP+13β(H),17α(H)-diacolestano (20S+R)+ 13α(H),17β(H)-diacolestano (20S+R)); ^x%DIA_{27,28,29}(∑(DIA₂₇S+DIA₂₇R+DIA₂₇SS+DIA₂₇RR)/∑(DIA₂₇S+DIA₂₇R+DIA₂₇SS+DIA₂₇RR+DIA₂₈S+DIA₂₈R+DIA₂₈SS+DIA₂₈RR+DIA₂₉S+DIA₂₉R+DIA₂₉SS+DIA₂₉RR)*100); ^zTs/(Ts+Tm) (18α(H),21β(H)-22,29,30-trisnorneohopano/∑(18α(H),21β(H)-22,29,30-trisnorneohopano+17α(H),21β(H)-22,29,30-trisnorhopano); ^{za}S/(S+R)C₂₉EST (C₂₉S+ C₂₉BBS)/(C₂₉S+C₂₉BBR+C₂₉BBS+C₂₉R); ^{zb} abb/(abb+aaa)C₂₉EST (C₂₉BBR+C₂₉BBS)/ (C₂₉S+C₂₉BBR+C₂₉BBS+C₂₉R).

APÊNDICE D: Resultados obtidos através da análise estatística pelo teste t pareado para comparar as razões diagnósticas obtidas no modo SIM e MRM

Quadro 2 – Resultados do teste t pareado para as razões diagnósticas de biomarcadores obtidas pelos dois modos de monitoramento, SIM e MRM ($p < 0,0500$ para diferenças significativas)

Razões diagnósticas	p	Razões diagnósticas	p
GAM/H ₃₀	0,0062	TR ₂₃ /H ₃₀	0,0953
C ₃₅ HHI	0,0051	H ₂₈ /TR ₂₃	0,4938
H ₃₅ /H ₃₄	0,5848	GAM/TR ₂₃	0,5010
H ₂₉ /H ₃₀	0,7077	H ₂₉ /C ₂₉ Ts	0,4670
H ₂₈ /H ₂₉	0,0315	%C ₂₇ EST	0,4574
TET ₂₄ /H ₃₀	0,0009	%C ₂₈ EST	0,7085
TET ₂₄ /TR ₂₆	0,0302	%C ₂₉ EST	0,3726
TR ₂₃ /TR ₂₄	0,0066	TPP	0,3644
TR ₁₉ /TR ₂₃	0,0109	%DIA ₂₇	0,0060
HOP/EST	0,0008	%DIA ₂₈	0,1118
TR/HOP	0,0607	%DIA ₂₉	0,0419
TR ₂₁ /TR ₂₃	0,0254	Ts/(Ts+Tm)	0,3943
TR ₂₄ /TR ₂₅	0,0885	S/(S+R)C ₂₉ EST	0,5088
TR ₂₆ /TR ₂₅	0,1245	abb/(abb+aaa)C ₂₉ EST	0,0540
TR ₂₆ /TR ₂₈	0,0006		