

Instituição
Universidade Estadual de Campinas
UNICAMP

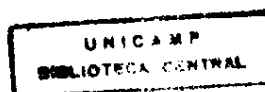
Título

**ESTUDO DE BIOMARCADORES EM ÓLEOS DO
CAMPO FAZENDA BELÉM, BACIA POTIGUAR:
IDENTIFICAÇÃO DE 3-ALQUIL- E
3-CARBOXIALQUIL ESTERANOS,
CONSTITUINTES DE UMA NOVA CLASSE DE
BIOMARCADORES**

Tese de Doutorado
José Arimatéia Dantas Lopes

Orientador
Prof. Dr. Francisco de Assis Machado Reis

Campinas
1995



UNIDADE	IQ
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	L881e
V.	
T.º DO B.	25535
PREC.	433,95
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	19/09/95
N.º CPD	

CM-00076717-2

Lopes, Jose Arimateia Dantas

Estado de biomarcadores em ole
os do campo fazenda Belen, bac
ia Potiguar identificação de 3
T/JNICAMP/L881e
DEVOLVER NOME LEIT. (25535/95)

Dedico esse trabalho
a **Grça**, *minha esposa,*
e a **Lorena, Alexandre e Lara,**
meus filhos,
pelo amor, carinho, paciência e
compreensão durante o longo tempo
dedicado
a este trabalho

**A Meus Pais e Meus Irmãos
e
à memória do Amigo Afonso**

AGRADECIMENTOS

- ⇒ **Ao Professor Francisco de A. M. Reis pela orientação e apoio na realização deste trabalho;**
- ⇒ **Ao Corpo Técnico do Setor de Geoquímica do CENPES, Petrobras, em especial a Márcio Rocha Mello e Eugênio Vaz dos Santos Neto pelo apoio, sugestões e valiosas discussões durante o desenvolvimento deste trabalho e pelas amostras cedidas para a sua realização**
- ⇒ **À Direção do Instituto de Química da UNICAMP, pelas facilidades concedidas, especialmente, pela utilização do laboratório de CG-EM;**
- ⇒ **À UFPI, ao CCN, e em especial ao Departamento de Química da UFPI, pelo incentivo à capacitação de docentes;**
- ⇒ **Ao programa PICD/CAPES, pela bolsa de estudos concedida;**
- ⇒ **À Professora Raquel Marques Braga pelo apoio, atenção e amizade;**
- ⇒ **Aos colegas de laboratório pela agradável convivência;**
- ⇒ **À Maria Angélica pelo excelente apoio técnico;**
- ⇒ **À Paula e à Sônia pelos espectros de RMN;**
- ⇒ **Aos amigos Moita, Graziella, Juan e Neuza pelo apoio e amável acolhida;**
- ⇒ **À minha família e à da minha esposa, pelo amor, apoio e incentivo;**
- ⇒ **Finalmente, a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.**

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°API	densidade relativa definida pelo <i>American Petroleum Institute</i>
AcOEt	acetato de etila
AMCPB	ácido meta-cloroperbenzóico
Arom.	aromáticos
BuLi	butil lítio
CCD	cromatografia em camada delgada
CG	cromatografia gasosa
CG-EM	cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
COSY	espectro de RMN de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (<i>correlation spectroscopy</i>)
CPI	índice de preferência de carbono
δ	deslocamento químico em partes por milhão
d	dubleto
dd	duplo dubleto
DEPT	espectro de RMN de ^{13}C intensificado por transferência de polarização sem distorção (<i>distortionless enhancement by polarization transfer</i>)
DH/NH	razão hopano desmetilado (DH) / nor-hopano (NH)
DIC	detetor de ionização de chama
dm	duplo múltiplo
DMAP	N,N-dimetil-4-aminopiridina
E	espectro
EM	espectro de massas
EMA	ésteres metílicos derivados da fração ácida
Fig.	figura
HAL	hidrocarbonetos alifáticos
HDA	hidrocarbonetos deuterados derivados da fração ácida
HETCOR	espectro de RMN com correlação heteronuclear $^{13}\text{C} \times ^1\text{H}$ (<i>heteronuclear correlation</i>)
HHA	hidrocarbonetos derivados da fração ácida
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento

m	multiplete
M ⁺	íon molecular (espectro de massas)
M-15	íon correspondente à perda de metila (espectro de massas)
m/z	relação massa (m) sobre carga (z)
max	máximo
MeLi	metil lítio
NAF	ácidos naftênicos
PB	pico-base (espectro de massas)
p.f.	ponto de fusão
q	quarteto
quint	quinteto
RIC	cromatograma reconstruído a partir de íons (<i>reconstructed ion chromatogram</i>)
RMN ¹³ C	ressonância magnética nuclear de ¹³ C
RMN ¹ H	ressonância magnética nuclear de próton
s	singleto
Sat.	saturados
SIM	monitoramento seletivo de íons (<i>selected ion monitoring</i>)
t	tripleto
t.a.	temperatura ambiente
TEFA	triethylfosfonoacetato
THF	tetraidrofurano
TIC	corrente iônica total (<i>total ion current</i>)
T _m	17 α (H)-trisorhopano
TMS	tetrametilsilano
T _s	18 α (H)-trisorneohopano

ABSTRACT

The present work reports the study of biomarkers from oil samples recovered from Fazenda Belem oil field, in the northwestern part of the Potiguar basin, which constitutes the second highest oil producing basin in Brazil. The studied oils (four different wells) are pooled in sandstone reservoir of the Açú formation deposited from the Albian to Cenomanian and sourced by shales and marls of the Galinhos members and Ponta do Tubarão beds of the alagamar formation. The geochemical characteristics of these oils allow their classification as marine evaporitic oil type. The neutral and acidic fractions were studied and all four oil samples showed almost the same biomarker composition. GC and GC/MS analysis clearly evidenced that the oils were biodegraded and suggested that the total lack of n-alkanes and isoprenoids compounds are due to extensive bacteria degradation.

The reanalysis of the neutral fraction (preliminary analysis was carried out by SEGEQ / CENPES / PETROBRAS lead us to the identification of several biomarkers not previously detected including eighth bicyclic terpanes from drimane group, four tetracyclic diterpanes and new additions to the homohopane hydrocarbons serie. We detected a whole series of 3-alkylsteranes (C_1 to C_6) belonging to the cholestane, ergostane and stigmastane groups. These compounds of $3\beta(\text{alkyl})5\alpha(\text{H})$ configuration constitute a new class of biomarkers. In this work we identified, for the first time, a whole series of 3-alkylsteranes with $3\alpha(\text{alkyl})5\beta(\text{H})$ stereochemistry. The identification of 3-alkylsteranes for both $3\beta(\text{alkyl})5\alpha(\text{H})$ and $3\alpha(\text{alkyl})5\beta(\text{H})$ was confirmed by coinjection with standard compounds.

The analyses were carried out by GC/MS with methyl ester, hydrocarbons and deuterated hydrocarbon derivatives of the acidic fraction. Linear acids, hopanoic acids and steranoic acids were identified corresponding to usual hydrocarbons biomarkers. Nevertheless the major contribution was the identification of the whole series of 3-alkylsteranoic acids of the cholestane, ergostane and stigmastane with both $3\beta(\text{alkyl})5\alpha(\text{H})$ and $3\alpha(\text{alkyl})5\beta(\text{H})$ stereochemistry.

With the purpose of structure confirmation, 10 biomarkers were synthesized: $5\alpha(\text{H})$ -cholest- 3β -yl-acetic methyl ester, $5\beta(\text{H})$ -cholest- 3α -yl-acetic methyl ester; The 3β -alkyl- $5\alpha(\text{H})$ -cholestane (C_1 to C_4) and 3α -alkyl- $5\beta(\text{H})$ -cholestane (C_1 to C_4). Six of these were synthesized for the first time and all of them were identified as biomarkers presents in the studied oils of Fazenda Belem field.

R E S U M O

Este trabalho relata o estudo de biomarcadores de óleos recuperados do campo de Fazenda Belém, situado a noroeste da bacia Potiguar, que se constitui na segunda maior bacia produtora de óleo do Brasil. Os óleos estudados (quatro poços) encontram-se em arenitos da formação açu depositados do período Albiano ao Cenomaniano e originaram-se essencialmente a partir dos folhelhos e margas do membro Galinhos e das camadas Ponta do Tubarão da formação Alagamar. As características geoquímicas destes óleos permitem a sua classificação como marinho evaporítico.

Foram analisadas as frações neutras e ácidas, sendo que as quatro amostras apresentaram praticamente a mesma composição de biomarcadores. As análises por CG e CG-EM evidenciaram a ausência de compostos lineares, confirmando assim o elevado estágio de biodegradação destes óleos devido a intensa degradação bacteriana. Tal fato se deve a percolação de águas meteóricas nos reservatórios rasos que, carreando oxigênio e nutrientes, compõem as acumulações de hidrocarbonetos do Campo de Fazenda Belem,

A reanálise da fração neutra (a análise preliminar foi feita pelo SEGEQ / CENPES / PETROBRAS) permitiu a identificação de vários biomarcadores que não tinham sido detectados anteriormente, incluindo oito terpanos bicíclicos do grupo drimano, quatro diterpanos tetracíclicos e novas adições à série dos hidrocarbonetos homohopanos. Também foram detectadas as séries de 3-alkil esteranos (C_1 a C_6) pertencentes aos grupos colestano, ergostano e estigmastano. Estes compostos de configuração $3\beta(\text{alkil})5\alpha(\text{H})$ constituem uma nova classe de biomarcadores. Neste trabalho foram identificados, pela primeira vez, uma série de 3-alkil esteranos com estereoquímica $3\alpha(\text{alkil})5\beta(\text{H})$. A identificação dos 3-alkil esteranos com ambas as configurações, $3\beta(\text{alkil})5\alpha(\text{H})$ e $3\alpha(\text{alkil})5\beta(\text{H})$, foi confirmada por coinjeção com compostos padrões.

Foram realizadas análises por CG-EM dos ésteres metílicos, hidrocarbonetos e hidrocarbonetos deuterados derivados dos ácidos. Foram identificados ácidos lineares, ácidos hopanóicos e ácidos esteranoícos correspondentes aos hidrocarbonetos biomarcadores conhecidos. Contudo, a maior contribuição foi a identificação da série de ácidos 3-alkil esteranoícos derivados de colestano, ergostano e estigmastano, com estereoquímica $3\beta(\text{alkil})5\alpha(\text{H})$ e $3\alpha(\text{alkil})5\beta(\text{H})$.

Para a confirmação das estruturas propostas, foram sintetizados 10 biomarcadores: o $5\alpha(\text{H})$ -colesta- 3β -il acetato de metila, o $5\beta(\text{H})$ -colesta- 3α -il acetato de metila; os 3β -alquil- $5\alpha(\text{H})$ -colestanos (C_1 a C_4) e 3α -alquil- $5\beta(\text{H})$ -colestanos (C_1 a C_4). Seis destes compostos foram sintetizados pela primeira vez e todos foram identificados como biomarcadores presentes nos óleos estudados do Campo de Fazenda Belém.

SUMÁRIO

Agradecimentos	i
Abreviaturas e símbolos	ii
Abstract	iv
Resumo	v
I. Introdução Geral	01
II. Apresentação das Amostras e Tratamento Analítico	03
I.1. A Bacia Potiguar e seus óleos	03
II.2. Tratamento das amostras	06
III. Estudo de Biomarcadores Neutros	10
III.1. Introdução	10
III.1.1. Comentários Gerais	10
III.1.2.1. Alcanos lineares	10
III.1.2.2. Alcanos Ramificados	11
III.1.2.3. Terpanos bicíclicos	12
III.1.2.4. Terpanos tricíclicos	13
III.1.2.5. Terpanos tetracíclicos	14
III.1.2.6.. Terpanos pentacíclicos	15
III.1.2.7.. Esteranos	20
III.1.2.8.. Diasteranos	23
III.1.2.9. Alquil-esteranos	24
III.1.3. Aplicação de biomarcadores saturados em parâmetros de correlação, de fonte e ambiente deposicional, de maturação, de migração e de biodegradação	
III.1.3.1. Correlação	26
III.1.3.2. Paleoecologia	27
III.1.3.3. Maturação	27

III.1.3.4. Migração	28
III.1.3.5. Biodegradação	28
III.1.4. Parâmetros mais utilizados como indicadores geoquímicos	28
III.2. Discussão	32
III.2.1. Bicíclicos	35
III.2.2. Diterpanos tetracíclicos	37
III.2.3. Terpanos tricíclicos e pantacíclicos	39
III.2.4. Esteranos e Diasteranos	45
III.2.5. 3-Alquil-esteranos	48
III.3. Conclusões	51
IV. Estudo de Biomarcadores Ácidos	52
IV.1. Introdução	52
IV.1.1. Comentários gerais	52
IV.1.2. Ácidos graxos	52
IV.1.3. Ácidos isoprenóides acíclicos	54
IV.1.4. Ácidos mono- bicíclicos	55
IV.1.5. Ácidos terpanóicos tri- e pentacíclicos	55
IV.1.6. Ácidos esteranoícos	57
IV.2. Discussão	58
IV.2.1. Considerações gerais	58
IV.2.2. Ácidos graxos	59
IV.2.3. Ácidos bicíclicos	61
IV.2.4. Ácidos terpanóicos tetracíclicos	62
IV.2.5. Ácidos terpanóicos tricíclicospentacíclicos	62
IV.2.6. Ácidos esteranoícos	72
IV.2.7. Ácidos alquil-esteranoícos	74
IV.3. Conclusões	85

V. Síntese de Alquil Esteranos	86
V.1. Introdução	86
V.2. Obtenção de colestá-4en-ona	87
V.3. Obtenção de 5 β (H)-colestan-3-ona	88
V.4. Caracterização da 5 β (H)-colestan-3-ona	92
V.5. Padrões de hidrocarbonetos da série CIS	94
V.6. Padrões de hidrocarbonetos da série TRANS	96
V.7. Discussão dos espectros de massas dos padrões	98
V.8. Padrões de ésteres	102
V.9. Conclusões	104
VI. Conclusão Geral	107
VII. Experimental	108
VII.1. Equipamentos e Reagentes	108
VII.1.1. Equipamentos	108
VII.1.2. Reagentes e solventes	110
VII.2. Obtenção e Derivatização das Frações de Petróleo	111
VII.1.1. Obtenção da fração HAL	111
VII.1.2. Obtenção da fração NAF	111
VII.1.3. Obtenção das frações EMA, HHA e HDA	113
VII.1.3.1. Esterificação dos ácidos	113
VII.1.3.2. Redução dos ésteres	114
VII.1.3.3. Mesilação dos álcoois	115
VII.1.3.4. Redução com LiAlH ₄ e LiAlD ₄	115
VII.3. Preparação de Padrões	116
VII.3.1. Oxidação de colesterol a 4-colesten-3-ona	116
VII.3.2. Redução de 4-colesten-3-ona	117
VII.3.3. Preparação da série de padrões 5 β (H)	118
VII.3.3.1. Preparação de 3 α -metil-5 β (H)-colestano	118

VII.3.3.2. Preparação de 3 α -etil-5 β (H)-colestano	119
VII.3.3.3. Preparação de 3 α -propil-5 β (H)-colestano	120
VII.3.3.4. Preparação de 3 α -butil-5 β (H)-colestano	121
VII.3.3.1. Preparação do [5 β (H)-colest-3 α -il]-acetato de Metila	122
VII.3.4. Preparação da série de padrões 5 α (H)	123
VII.3.3.1. Preparação de 3 β -metil-5 α (H)-colestano	123
VII.3.3.2. Preparação de 3 β -etil-5 α (H)-colestano	123
VII.3.3.3. Preparação de 3 β -propil-5 α (H)-colestano	124
VII.3.3.4. Preparação de 3 β -butil-5 α (H)-colestano	124
VII.3.3.1. Preparação do [5 α (H)-colest-3 β -il]-acetato de Metila	125
VIII. Referências Bibliográficas	127
IX. Apêndice A: Espectros de Padrões	137
IX.1. Espectros de Massas	137
IX.2. Espectros de ¹ RMN	146
IX.3. Espectros de ¹³ RMN	155
IX.4. Espectros de ¹³ RMN, DEPT-135 e DEPT-90	164
X. Apêndice B: Espectros de massas dos picos listados nas tabelas 2, 3, 9, 13 e 15	173
X.1. Terpanos bicíclicos (tabela 2)	173
X.2. Terpanos tetracíclicos (tabela 3)	175
X.3. Alquil esteranos (tabela 9)	176
X.4. Hidrocarbonetos derivados de ácidos hopanóicos (tab.13)	182
X.4. Hidrocarbonetos derivados de ác. alquil esteranóicos (tab.15)	188

I. INTRODUÇÃO GERAL

I. INTRODUÇÃO GERAL

O petróleo é uma mistura complexa de compostos orgânicos de estruturas bem variadas (Tissot e Welte, 1984) e que inclui desde gases até polímeros. Dentre estes compostos destacam-se os biomarcadores (marcadores biológicos ou fósseis químicos) que são compostos orgânicos encontrados não somente em petróleo, mas também, em sedimentos e rochas e cujas estruturas moleculares podem ser correlacionadas a conhecidos produtos naturais, originários, principalmente, de plânctons, bactérias e vegetais superiores, dos quais, propõe-se derivar como resultado de transformações provocadas por processos biológicos e termoquímicos que, no entanto, preservam seus esqueletos carbônicos básicos (Philp, 1985; Mello, 1988; Peters e Moldowan, 1993), como pode ser visto no exemplo clássico mostrado abaixo:

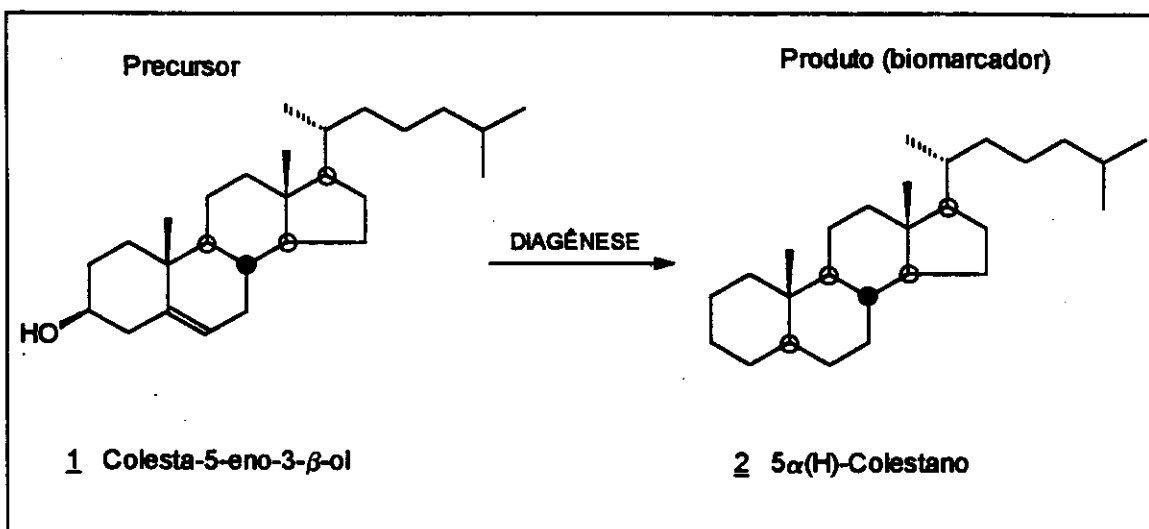


Figura 1: Exemplo clássico de correlação biomarcador (2)/ precursor (1)

Os biomarcadores distribuem-se por diversas classes de compostos orgânicos, incluindo os hidrocarbonetos saturados, insaturados e aromáticos; compostos oxigenados, tais como ácidos carboxílicos, álcoois e cetonas; bem como compostos nitrogenados e sulfurados (Scofield, 1990).

O estudo de biomarcadores tem sido de importância primordial para o desenvolvimento da indústria petrolífera mundial, uma vez que vem fornecendo importantes subsídios para diversos setores dessa indústria, onde se inclui o trabalho de prospecção de petróleo.

O perfil de distribuição destes compostos em uma amostra de óleo, rocha ou sedimento, levando-se em conta aspectos como: ocorrência, concentração, abundância relativa e, inclusive, variações na estereoquímica de determinados compostos, serve como uma espécie de "impressão digital" da amostra, fornecendo informações acerca da sua origem, ambiente deposicional, estágio de maturação e de biodegradação, etc e pode ser utilizado, por exemplo, para se fazer correlação entre amostras de óleos ou entre amostras de óleo e rocha geradora (Philp, 1985).

No Instituto de Química da UNICAMP está se consolidando um grupo de pesquisa na área de "geoquímica orgânica". Este grupo está centrando seus trabalhos no estudo de biomarcadores ácidos em óleos de bacias sedimentares brasileiras.

A opção pelo enfoque nos biomarcadores ácidos se deu pelo fato de que estes compostos são relativamente pouco estudados, quando comparados com os biomarcadores neutros e, também, porque os trabalhos já publicados (Cooper e Bray, 1963; Douglas et al., 1966; Seifert, 1975; Jafé e Gallardo, 1993) sinalizam para a grande potencialidade que esta classe de biomarcadores tem no sentido de fornecer importantes informações adicionais acerca da "história" geoquímica e geológica de um óleo ou sedimento.

Neste trabalho, especificamente, foi feito um estudo sobre a ocorrência de **biomarcadores neutros saturados** (hidrocarbonetos saturados) e de **biomarcadores ácidos** (ácidos naftênicos), com maior ênfase nestes últimos, em óleos do campo Fazenda Belém da bacia Potiguar. Os óleos deste campo são biodegradados, praticamente não contêm hidrocarbonetos lineares e ramificados e, por outro lado, são ricos em biomarcadores cíclicos. Associado a isso apresentam um elevado índice de acidez. Estas características tornam estes óleos adequados para o estudo de biomarcadores ácidos, especialmente, daqueles compostos com estruturas mais complexas, que contêm um maior número de centros quirais, apresentando portanto, um maior potencial no sentido de fornecer um maior volume de informações.

As técnicas utilizadas na detecção e identificação desses compostos foram a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

**II. APRESENTAÇÃO DAS AMOSTRAS
E TRATAMENTO ANALÍTICO**

II. DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS E TRATAMENTO ANALÍTICO

Para a realização deste trabalho, foram utilizadas quatro amostras de petróleo, as quais serão identificadas aqui como A, B, C, D. Estas amostras foram coletadas de diferentes poços do campo Fazenda Belém, da Bacia Potiguar e a seqüência de letras corresponde a ordem crescente de profundidade dos reservatórios de onde estes óleos foram retirados.

II.1. A Bacia Potiguar e seus óleos

A Bacia Potiguar (figura 2) se estende pelo litoral dos estados do Rio Grande do Norte e Ceará, ocupando uma área de 48000 km², dos quais, 21500 km² são no continente ("on shore"). Estruturalmente é constituída por um "graben" eocretáceo que foi soterrado por sedimento do Cretáceo e Terciário. É uma bacia tipo "rift" formada em resposta à separação das plataformas da América do Sul e África (Santos Neto et al.,1990). Os óleos acumulados nesta bacia apresentam características geoquímicas variadas em decorrência da matéria orgânica preservada nos diferentes ambientes deposicionais. Os geradores destes óleos foram identificados como pelitos das formações Alagamar e Pendência (Santos Neto et al.,1990; Trindade, 1992; Trindade et al., 1992) Na formação Pendência estão incluídos os sedimentos depositados durante o neocomiano, correspondendo ao estágio tectônico "rift" com ambiente deposicional lacustre; enquanto que na formação Alagamar temos os sedimentos depositados no estágio transicional de idade aptiana, correspondendo a um ambiente marinho restrito (Santos Neto et al.,1990; figura 3).

Os óleos gerados na formação Alagamar apresentam uma grande variação na sua evolução térmica e dependendo da localização na bacia podem estar relacionados desde a um estágio prematuro de evolução térmica (R_o equivalente em torno de 0,55%; Santos Neto et al 1990) até a fase principal de geração (R_o equivalente de 0,85%), enquanto os óleos gerados pela formação Pendência apresentam-se muito evoluídos termicamente.

Os óleos gerados pela formação Alagamar, onde se incluem os óleos do campo Fazenda Belém, podem ser divididos em dois grupos: os marinhos-evaporíticos, gerados pelos folhelhos e margas das camadas Ponta do Tubarão e Membro Galinhos e os mistos, resultantes da mistura dos primeiros com óleos gerados a partir de folhelhos lacustres de água

doce, do membro Upanema ou da formação Pendência (Santos Neto et al., 1990).

Os óleos pertencentes ao grupo dos marinhos-evaporíticos, apresentam como características, uma porcentagem de hidrocarbonetos saturados em torno de 55%, um teor de enxofre considerado elevado para os óleos brasileiros (>0,5%) e valores de $\delta^{13}\text{C}$ maior que -26,6‰. O perfil de biomarcadores também é muito peculiar, destacando-se, entre os terpanos: uma elevada proporção de gamacerano em relação ao hopano, a presença de bisnorhopano, uma baixa razão entre os homohopanos em C_{34} e C_{35} e a predominância de T_m (28, 29, 30- trisnorhopano) sobre T_s (22, 29, 30- trisnorneohopano); e entre os esteranos regulares: a predominância de epímeros em C_{27} sobre C_{28} e C_{29} e a ocorrência em baixa proporção relativa dos esteranos mais leves (Trindade et al. 1992)

O fenômeno de biodegradação é comumente observado nos óleos de origem marinho-evaporítica e nos óleos mistos. O nível de biodegradação pode variar, desde estágios incipientes, onde se observa apenas um decréscimo relativo dos alcanos normais em relação aos cíclicos, até estágios bem avançados, onde se nota a eliminação quase completa destes alcanos e o aparecimento de hopanos desmetilados (Mello, 1988)

Os óleos de fazenda Belém estão acumulados em arenitos da formação Açú (Souto Filho, 1994) e são óleos de origem marinho-evaporítica. Na tabela 1, abaixo, são apresentadas algumas características das amostras utilizadas neste trabalho.

TABELA 1: Características de amostras de óleos coletados em diferentes poços do campo Fazenda Belém - Bacia Potiguar (*)

amostra	profundidade do reservatório	idade do reservatório	°API	% S	% ^{13}C	% Sat.	% Arom.	DH/NH
A	275m/327m	Albiano	14,2	-	-25,73	31,61	21,80	1,00
B	333m/345m	Albiano	14,8	0,92	-25,98	37,87	19,59	0,71
C	354m/402m	Albiano	-	0,81	-26,11	38,06	22,90	0,67
D	363m/394m	Albiano	14,9	0,89	-26,05	37,31	18,66	0,62

(*) Dados fornecidos pelo SEGEQ/CENPES/PETROBRAS

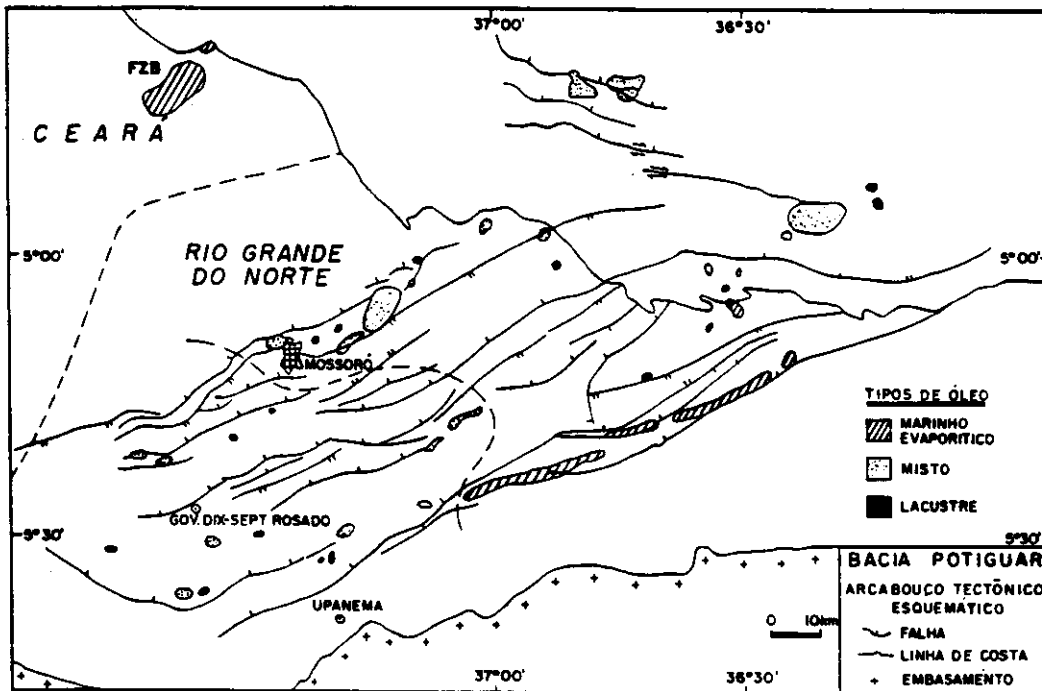


Figura 2: Localização da Bacia Potiguar, destacando o Campo Fazenda Belém (FZB). Fonte: SEGEQ/CENPES/PETROBRAS

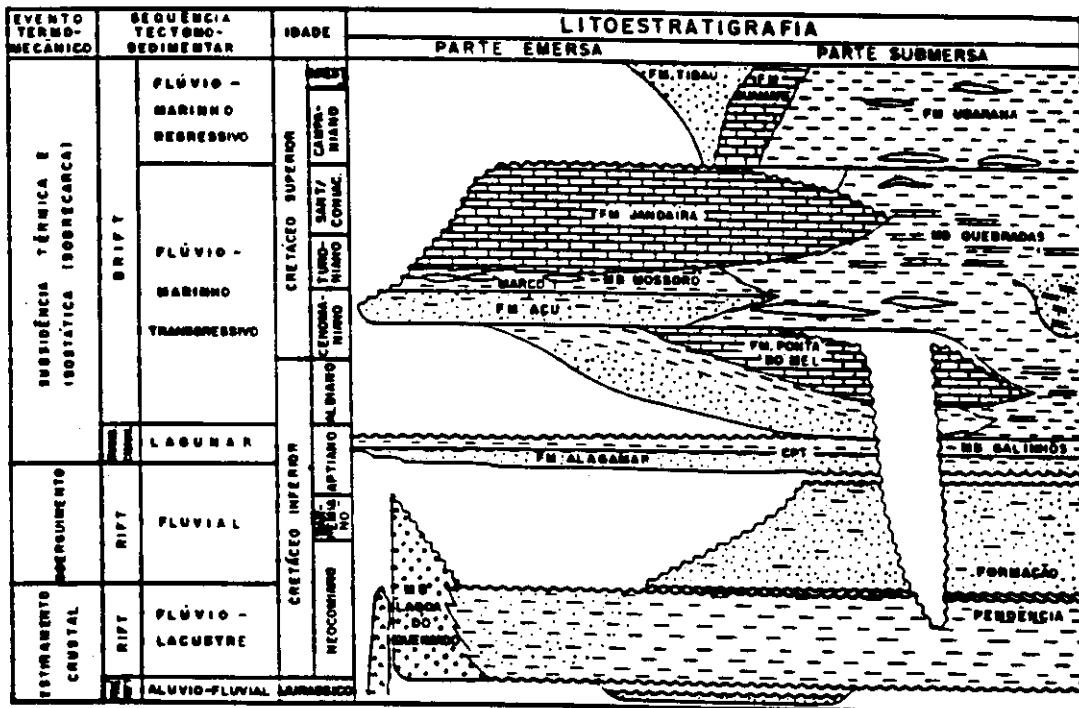
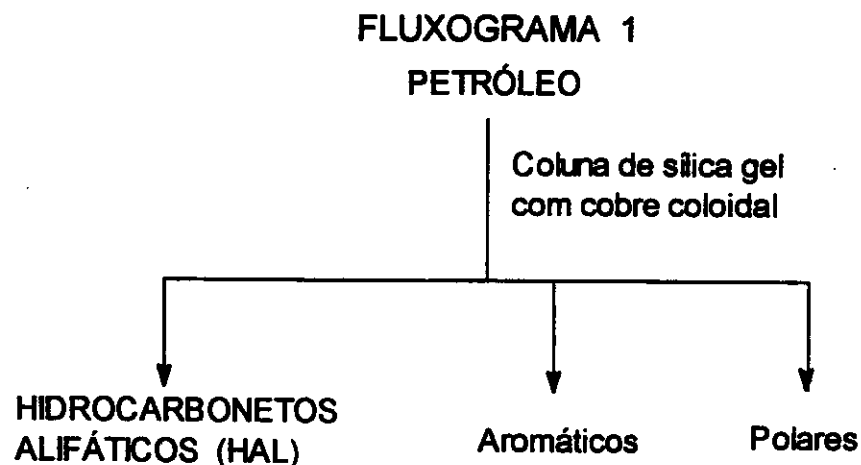


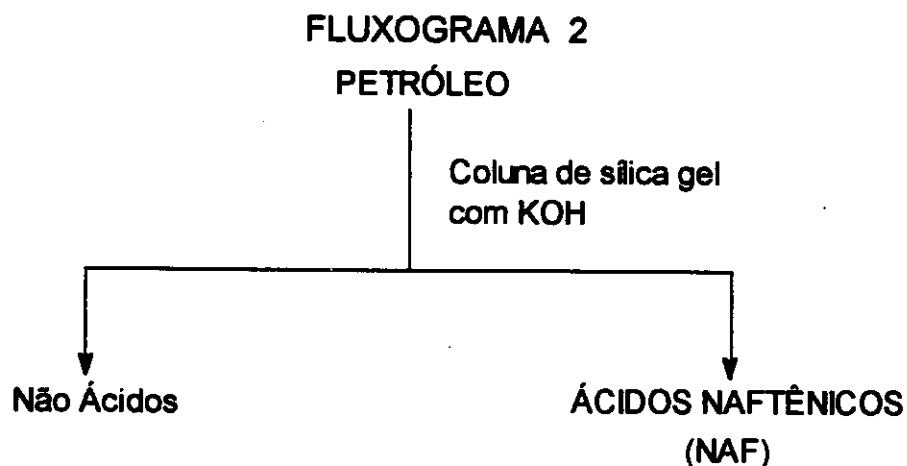
Figura 3: Evolução tectono-sedimentar e estratigrafia cretácica da Bacia Potiguar (Adaptado de Souza, 1982)

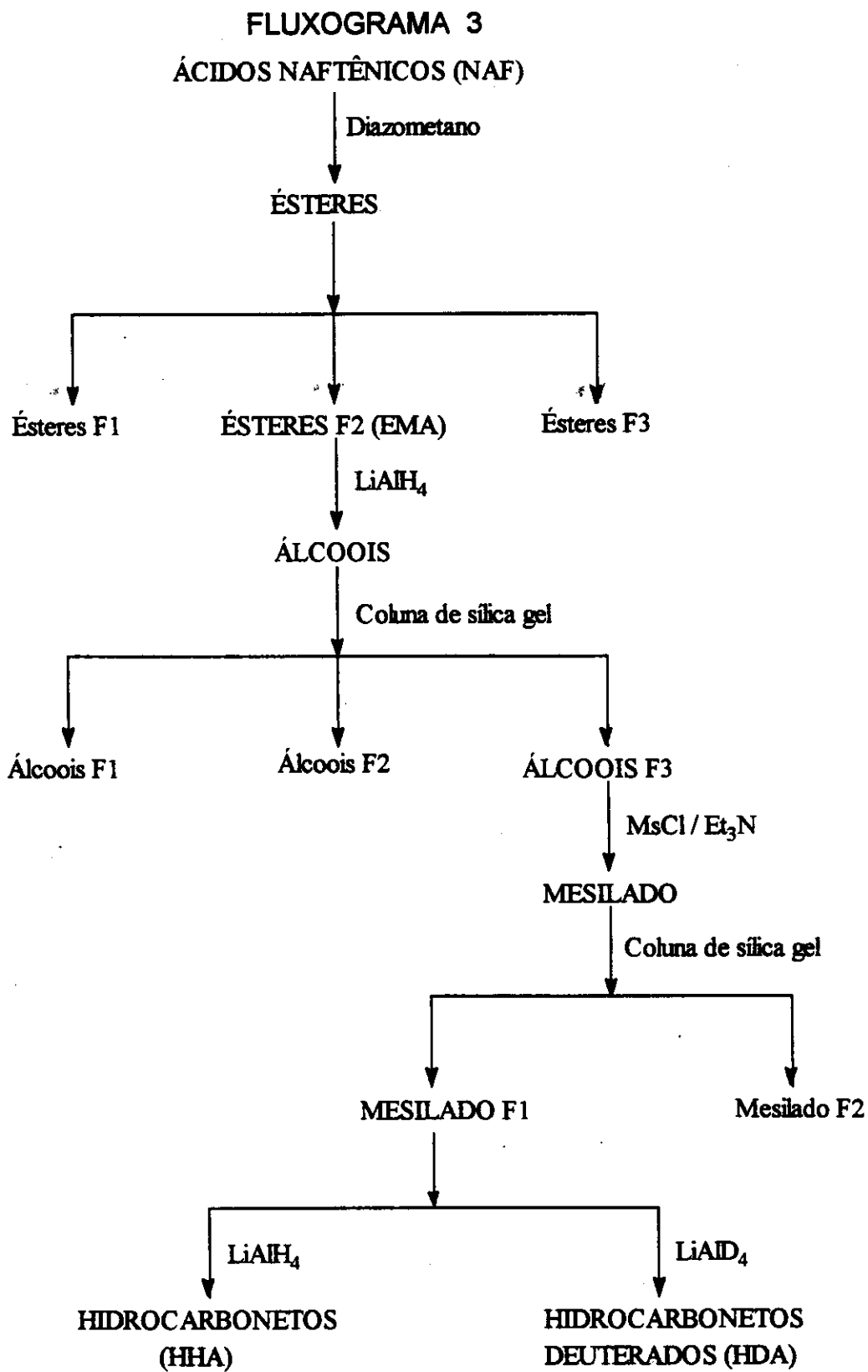
II.2. Tratamento das amostras de óleos estudados

As amostras foram tratadas de acordo com Trifiliat (1987), de forma a obter as frações de "hidrocarbonetos alifáticos" (HAL) e "ácidos naftênicos" (NAF). As frações HAL foram obtidas, tratando-se as amostras de óleo segundo o fluxograma 1, mostrado em seguida.



As frações NAF foram obtidas, tratando-se os óleos segundo o fluxograma 2. Estas frações foram, posteriormente, tratadas conforme o fluxograma 3, a fim de que fossem obtidos os seguintes derivados: ésteres metílicos (EMA), hidrocarbonetos (HHA) e hidrocarbonetos deuterados (HDA)





As frações HAL, EMA, HHA e HDA, de cada amostra de óleo, foram analisadas por cromatografia gasosa (CG) e por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

As análises por CG-EM, foram realizadas através de dois distintos modos de aquisição de dados: o **SCAN** e o **SIM** (de *Single Ion Monitoring*). O modo SCAN corresponde à aquisição de dados por varredura de todos os íons produzidos, dentro de uma faixa de massas (m/z) pré-determinada, enquanto que o SIM é o modo onde são adquiridos os dados referentes a grupos de íons previamente selecionados, característicos da classe ou classes de biomarcadores que se deseja monitorar. Assim, o modo de aquisição SCAN é mais geral e leva a um resultado mais representativo da amostra analisada; no entanto, oferece a desvantagem de apresentar problemas de co-eluição e *background* mais acentuados. O modo SIM além de minimizar estes problemas, uma vez que, através dele, temos o registro somente dos íons pré-selecionados, "concentra" a amostra em relação a estes íons, pois aumenta a sensibilidade de detecção. O sucesso no emprego deste modo de aquisição, no entanto, depende da representatividade dos íons selecionados para aquisição e da concordância entre os tempos programados para os diversos grupos de íons a serem monitorados e os tempos em que, os compostos que se busca detectar, eluem da coluna.

O registro obtido em ambos os modos de aquisição é chamado de corrente iônica total (TIC, de *total ion current*) ou cromatograma reconstruído a partir dos íons (RIC, de *reconstructed ion chromatogram*) e trata-se de um gráfico do somatório das abundâncias dos íons adquiridos em determinado momento (eixo y) *versus* tempo (eixo x). Isto equivale a um cromatograma reconstituído a partir do reagrupamento dos íons resultantes da fragmentação do componente (ou componentes) que elui em determinado momento. O TIC, ou RIC, obtido através do modo de aquisição SCAN é muito semelhante ao cromatograma obtido em CG, nas mesmas condições, utilizando um detetor tipo DIC (detetor de ionização de chama).

Devido à complexidade do "cromatograma" correspondente ao TIC, a pesquisa das diversas classes de biomarcadores é feita, geralmente, a partir da análise de "cromatogramas" de determinados íons, chamados de **fragmentograma** ou RIC de um íon específico (por exemplo, RIC m/z 191). Ele é obtido a partir do TIC, através de um recurso chamado *extract ion chromatogram*, e corresponde a uma parcela da corrente iônica total, apresentando o registro, apenas, das abundâncias de um determinado íon em função do tempo de eluição. Por conseguinte, registra somente os compostos que contêm, em seus espectros de massas, aquele íon selecionado. Em geral, a pesquisa de uma classe de biomarcadores é feita através da análise do RIC do íon correspondente ao pico-base desses compostos. Este recurso tem a vantagem de "limpar" o TIC, reduzindo os

problemas de co-eluição e *background*, enriquecendo-o quanto aos compostos que contêm o íon selecionado.

Os equipamentos utilizados nas análises por CG e CG-EM, estão descritos na parte experimental (seção VII.1.1., pag. 104).

**III. ESTUDO DOS
BIOMARCADORES NEUTROS**

III. ESTUDO DE CONSTITUINTES NEUTROS SATURADOS

III.1. INTRODUÇÃO

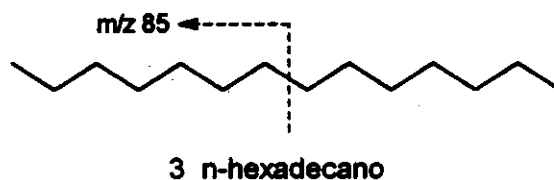
III.1.1. Comentários Gerais

Os hidrocarbonetos saturados podem ser diretamente analisados por CG e CG-EM, sem necessidade de derivatização. Dentre eles são encontrados os biomarcadores mais utilizados ultimamente na geoquímica do petróleo e, portanto, aqueles sobre os quais se gerou um maior volume de conhecimentos. Como consequência, esses compostos estão envolvidos na maioria dos parâmetros utilizados como indicadores de correlação, de fonte, ambientes deposicionais, de maturação, de migração e de biodegradação de amostras geológicas. Entre eles, encontramos: os alcanos lineares; os alcanos ramificados, constituídos principalmente de isoprenóides, os terpanos policíclicos e os esteranos.

III.1.1.1. Alcanos lineares

São os hidrocarbonetos geralmente mais abundantes nas amostras geológicas. Eles ocorrem numa grande variedade de plantas e outros organismos, juntamente com outros compostos insaturados e/ou oxigenados de cadeia não ramificada, que podem ser reduzidos durante a deposição e diagênese da matéria orgânica. São também de fácil detecção e sua distribuição na amostra fornece importantes informações acerca da origem e do estado de evolução térmica da matéria precursora. Por exemplo: a abundância de n-alcanos na faixa de C₂₅-C₃₅ com predominância de compostos com número ímpar de carbonos sobre aqueles com número par, é indicativo de contribuição de plantas terrestres superiores na formação da amostra, enquanto que a abundância na faixa C₁₆-C₂₄, com pouca ou nenhuma predominância de compostos com número ímpar de carbonos, sugere a contribuição de bactérias e algas marinhas é indicativo de ambiente marinho (Tissot e Welt, 1984).

Os n-alcanos são facilmente detectados por CG e, quando abundantes, são responsáveis pelo perfil cromatográfico do óleo. Em CG-EM, eles podem ser monitorado através do RIC m/z 85. Seus espectros de massas apresentam como característica a ocorrência de grupos de picos espaçados de 14 unidades de massa (correspondendo a acréscimos de CH₂), onde os picos correspondentes às espécies C_nH_{2n+1} são os mais abundantes. Em um grupo de íons relativos a espécies homólogas as abundâncias diminuem gradualmente com o aumento das massas (Budzikiewicz et al., 1965) e assim, de um modo geral, esses compostos apresentam íons moleculares pouco abundantes.



Nos processos de biodegradação são estes, os primeiros compostos a serem consumidos pelas bactérias.

III.1.1.2. Alcanos ramificados

São constituídos principalmente de isoprenóides regulares, dentre os quais se destacam o **fitano** (C₂₀), 5 e o **pristano** (C₁₉), 6. Estes dois compostos estão largamente distribuídos na geosfera e derivam, principalmente, da cadeia lateral fitil da clorofila presente em organismos fototróficos (Peters e Moldowan, 1993), podendo também derivarem de tocoferóis, que são encontrados numa grande variedade de organismos, onde se incluem algas, cianobactérias e plantas superiores (Milles, 1988). Em sedimentos sob condições anóxicas, a cadeia lateral fitil é clivada produzindo fitol que é reduzido a diidrofitol e então fitano. Sob condições óxicas, o fitol é oxidado a ácido fitênico que por descarboxilação gera pristeno e, então, por redução chega a pristano. A abundância relativa pristano/fitano (P/F), portanto, é um importante dado para a caracterização de ambiente deposicional de uma amostra (Mello et al. 1988; ten Haven et al. 1987), sendo muito utilizada e considerada como ferramenta importante no estudo de correlação óleo/óleo e óleo/rocha geradora.

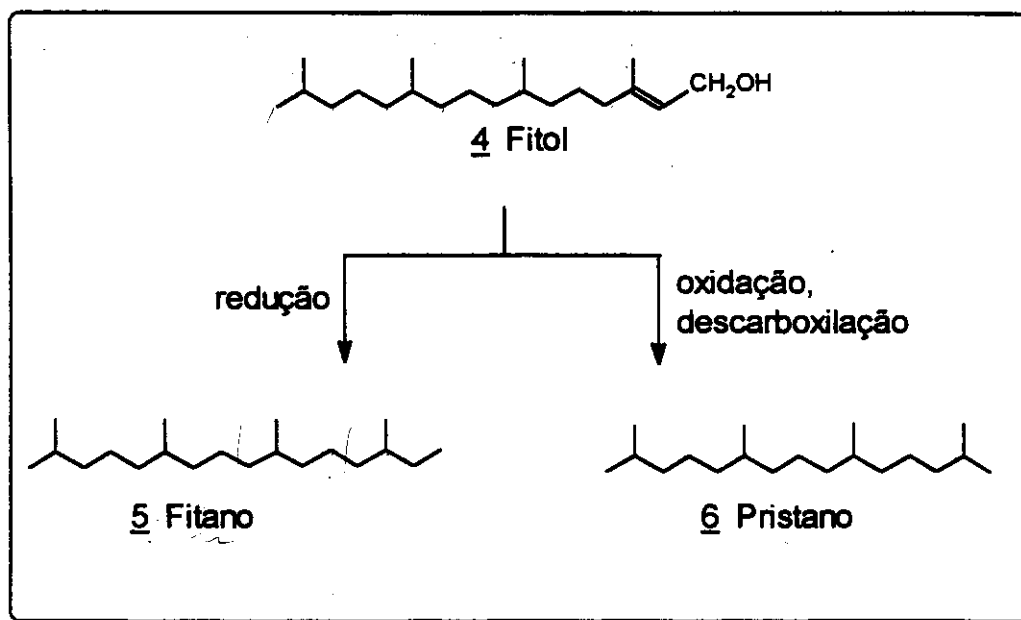
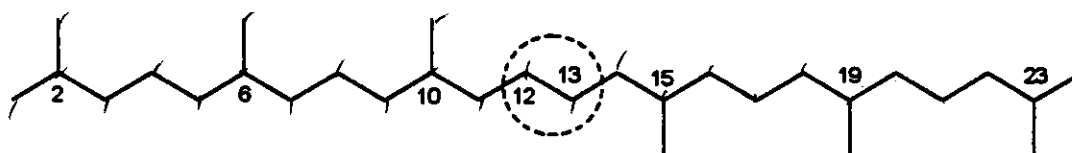


Figura 4 : Obtenção de fitano e pristano a partir de fitol

Outros isoprenoides acíclicos regulares, de cadeia curta (C₁₄-C₁₆ e C₁₈) e de cadeia longa (a partir de C₄₅), têm sido encontrados em amostras geológicas. Em adição a estes, isoprenoides acíclicos com junção cabeça-cabeça (Moldowan e Seifert, 1979) e cauda-cauda (Brassel et al., 1981), também ocorrem e entre eles incluem-se: o 2,6,10,15,19-pentametilicosano (C₂₅), o esqualano (C₃₀), 7 e o lycopano (C₄₀), que são indicadores de atividade de bactérias halofílicas no sedimento (Mello, 1988; Waples et al, 1974).



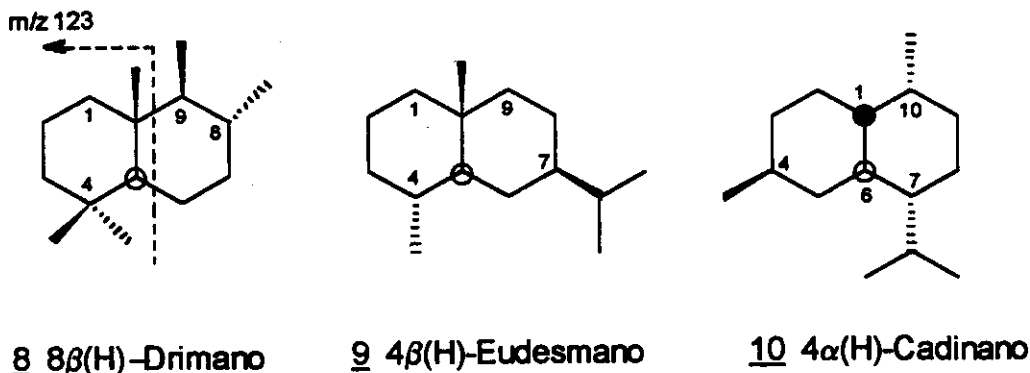
7 Esqualano (destacando a junção cauda-cauda)

Os isoprenoides podem ser monitorados, em CG-EM, através do ion m/z 183. Seus espectros diferenciam-se dos espectros dos alcanos lineares pelo fato de apresentarem quebras na diminuição gradual das abundâncias dos picos em função do aumento de massa (Budzikiewicz et al., 1965), visto que, alguns picos relativos à formação de espécies mais estáveis (ions secundários ou terciários), formados a partir da ruptura de ligação junto às ramificações, apresentam uma maior abundância, independente de suas massas.

Estes compostos são consumidos logo após os alcanos normais, nos processos de biodegradação.

III.1.1.3. Terpanos bicíclicos

Em relação aos tricíclicos e pentacíclicos, estes compostos têm sido pouco explorados como biomarcadores (Philp et al., 1981; Richardson e Miller, 1982; Alexander et al, 1983 e 1984). Dentre eles, no entanto, destacam-se os drimanos, 8, eudesmanos, 9 e cadinanos, 10. Os drimanos estão presentes nas amostras geológicas em geral, inclusive aquelas datadas desde o período cambriano, o que descarta a possibilidade de terem sua origem ligada a vegetais superiores. Eles têm origem microbiana (Weston et al., 1989) ou podem resultar da biodegradação de hopanos. Os eudesmanos e cadinanos não são constituintes comuns em óleos, eles são originários de vegetais superiores e quando presentes em uma amostra são indicadores inequívocos da contribuição destes organismos (Alexander et al, 1983).

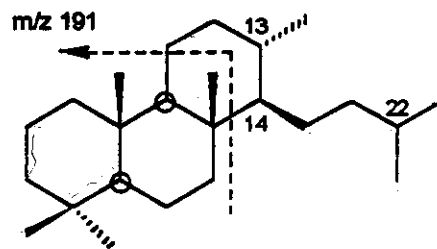


Os compostos bicíclicos são monitorados em CG-EM através do íon m/z 123 que, para os drimanos, corresponde ao pico-base. Seus espectros de massas apresentam como características, além do íon m/z 123, os íons correspondentes ao íon molecular, M^+ , de m/z igual a $14n-2$ (onde n corresponde ao número de carbonos do composto) e o íon correspondente a perda de metila ($M-15$).

III.1.1.4 Terpanos tricíclicos

Constituem uma classe de compostos vastamente distribuídos em óleos e sedimentos, desempenhando portanto um importante papel no estudo de petróleo (Heissler et al., 1984; Aquino Neto et al., 1986; Chicarelli et al., 1988).

Muitos óleos crus e extratos de rochas geradoras contêm uma série homóloga de tricíclicos tipo quellantano, 11, na faixa de C_{19} a C_{45} e até mais, com uma maior abundância dos homólogos até C_{26} . Eles ocorrem predominantemente com configuração $13\beta(H), 14\alpha(H)$ e, a partir do C_{25} , como uma mistura de diastereoisômeros, $22R$ e $22S$ (Aquino Neto et al., 1982; Moldowan et al., 1983). Numa série de quarenta óleos estudados por Aquino Neto et al (1981), estes compostos estavam presentes em todas as amostras, exceto aquelas derivadas de fonte terrestre, o que sugere que estes compostos devem ter origem microbiana ou de algas. Um precursor proposto para estes compostos é o triciclohexaprenol que é formado a partir de um constituinte celular universal, o hexaprenol (Ourisson et al, 1982; Aquino Neto et al. 1981, 1982).



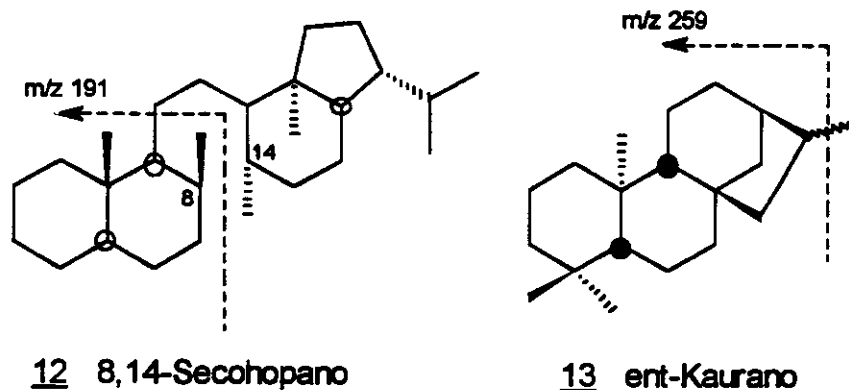
11 13 β (H)14 α (H)-Queilantano

Os espectros de massas desses compostos apresentam, além do íon molecular, M^+ , de m/z igual a $14n-4$ (onde n corresponde ao número de carbonos) e do íon correspondente à perda de metila (M-15), um fragmento característico e pico-base do espectro de massas, correspondente ao íon m/z 191. É através deste íon que se faz o monitoramento dos terpanos tricíclicos nas análises por CG-EM.

III.1.1.5. Terpanos tetracíclicos

Esses compostos constituem um outro grupo de compostos também encontrados em óleos e extratos de rocha (Trendel et al., 1982; Schmitter et al., 1982; Noble et al., 1985c). Eles formam uma série mais restrita que a dos tricíclicos, tendo como componentes mais comuns aqueles correspondentes a faixa que vai de C_{24} a C_{27} . Eles têm sido propostos como produtos da degradação de hopanos (Livsey et al., 1984). Nas análises por CG-EM, estes compostos também são monitorados através do íon m/z 191, que é o pico-base em seus espectros de massas.

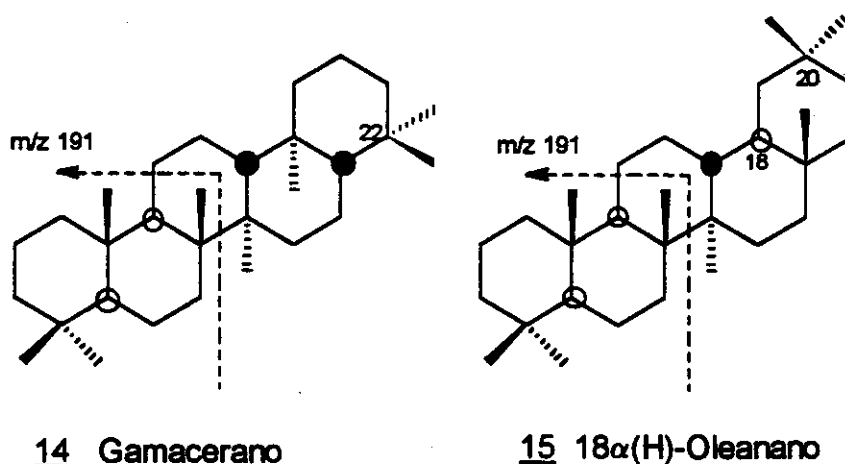
Há entre os tetracíclicos, um grupo de compostos de ocorrência ainda mais limitada que são os diterpanos com esqueletos muito semelhantes, tipo **ent-beierano**, **filocladano** e **ent-kaurano**, 13, cuja origem é restrita a vegetais superiores (Noble et al. 1985b e 1985c). A ocorrência desses compostos em amostras geológicas é indicativa da contribuição de matéria orgânica de origem terrestre na formação do sedimento. Estes tetracíclicos apresentam como pico-base o íon m/z 123 e apresentam ainda, como característica de seus espectros de massas, a presença dos íons m/z 274 correspondente ao próprio íon molecular e m/z 259 correspondente à perda de metila (M-15). Nas análises por CG-EM esses compostos são monitorados pela pesquisa conjunta desses dois íons, uma vez que o íon m/z 123 é o pico-base, também, dos bicíclicos (Alexander et al., 1983).



III.1.1.6. Terpanos pentacíclicos

Constituem, certamente, a classe de biomarcadores mais estudada e utilizada, dentre os biomarcadores cíclicos (Noble et al., 1985a; Zhuseg et al.; Bakarat e Yen, 1990; Ourisson e Albrecht, 1992; Ourisson e Rhomer, 1992). A existência de um grande número de centros quirais em suas moléculas confere a estes compostos uma grande potencialidade para formarem derivados com diferentes estereoquímicas, cujas abundâncias relativas podem ser utilizadas como parâmetros indicativos de ambiente deposicional e/ou de estágio de maturação e/ou nível de biodegradação.

Nesta classe encontram-se os compostos hopanóides e os não-hopanóides. Entre os não-hopanóides destacam-se o gamacerano, 14 e o oleanano, 15. O gamacerano tem sido encontrado em muitos óleos e sedimentos e, quando presente em alta abundância, refletem ambiente deposicional hipersalino (Seifert e Moldowan, 1981; Yan et al., 1982) Já o oleanano tem ocorrência restrita, aparecendo preferencialmente com configuração 18 α (H). Ele se origina de plantas terrestres superiores, sendo encontrado, portanto, somente em amostras datadas do cretáceo ou mais recentes (Ekweozor e Telnaes 1990).



O hopano e demais pentacíclicos hopanóides, 16, se encontram vastamente distribuídos em amostras geoquímicas, inclusive naquelas submetidas a processos de biodegradação. Eles constituem um dos grupos de biomarcadores mais utilizados na caracterização de petróleo e sedimentos. Ourisson et al. (1979), mencionaram que mais de 150 derivados de hopano já foram isolados de diversos tipos de matéria orgânica sedimentar. Eles ocorrem comumente como C₂₇ ou na faixa de C₂₉ a C₃₅, embora já tenham sido encontrados derivados de hopano de pesos moleculares mais altos, acima de C₄₅ (Rulköter e Philp, 1981). Esses compostos são derivados de lipídios bacterianos, particularmente do C₃₅ bacteriohopanotetrol (Ensminger et al. 1972 e 1978)

O hopano (C₃₀) e seus homólogos ocorrem com três diferentes estereoquímicas em relação aos carbonos C-17 e C-21: configuração 17 β (H),21 β (H), chamada " $\beta\beta$ "; configuração 17 α (H),21 β (H), chamada " $\alpha\beta$ " e configuração 17 β (H),21 α (H), chamada " $\beta\alpha$ ". A configuração biológica " $\beta\beta$ " é termicamente instável e, no processo de diagênese, é convertida nas configurações " $\alpha\beta$ " e " $\beta\alpha$ ", não sendo, portanto, encontrada em óleos, a menos que estejam contaminados com matéria orgânica sedimentar imatura. A configuração " $\alpha\beta$ " é a mais estável termodinamicamente, e a configuração " $\beta\alpha$ ", que caracteriza os moretanos, apresenta estabilidade intermediária. A variação nas concentrações relativas destes isômeros também é atribuída a um processo de degradação seletiva destes compostos (Mello 1988). Os homohopanos contêm mais um centro quiral, o C-22. A configuração biológica é 22R e com a maturação ela é convertida a 22S, até atingir um equilíbrio na abundância relativa 22S/22R, em torno de 60/40 para os $\alpha\beta$ -hopanos (Ensminger et al., 1978).

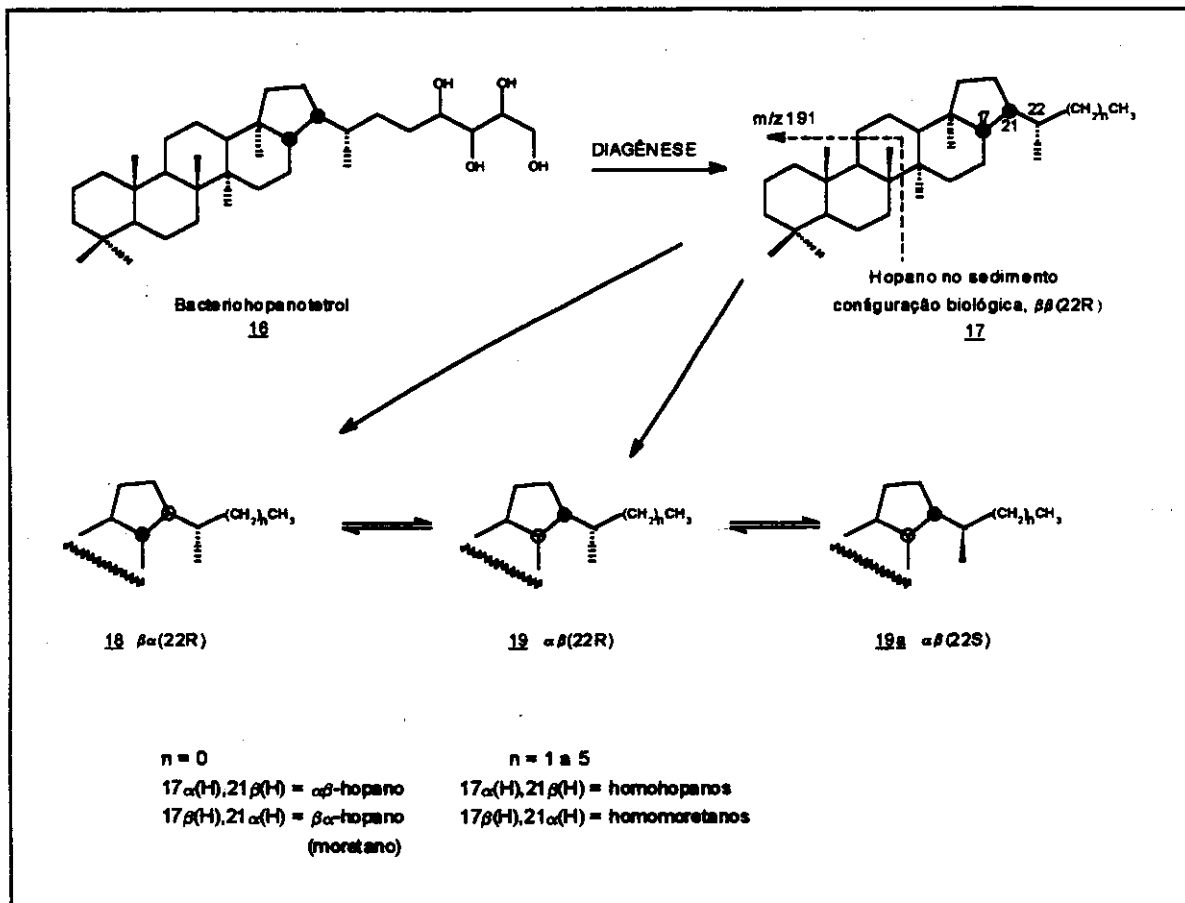
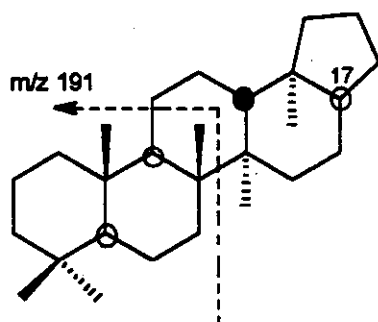
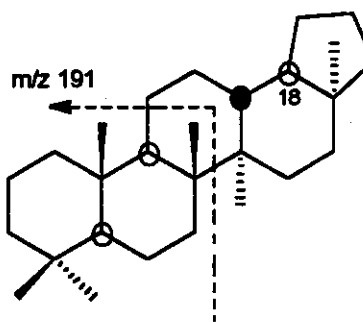
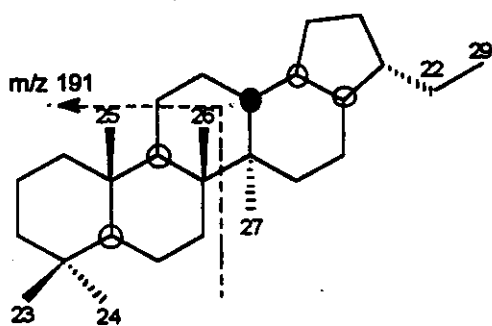
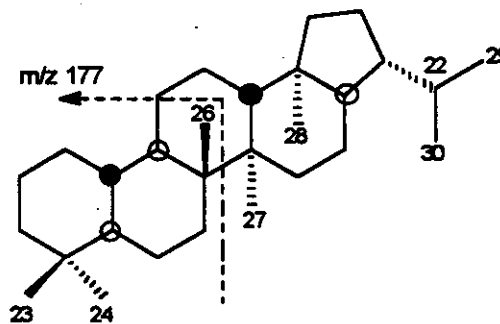


Figura 5 : Transformações diagenéticas do bacteriohopanotetrol

Outros compostos com esqueleto tipo-hopano, parcialmente modificado (Volkman et al., 1983; Moldowan et al., 1984), têm sido detectados em óleos e rochas geradoras. Dentre eles destacam-se: o 17 $\alpha(H)$ -22,29,30-trisnorhopano (Tm, m de "maturation", sensível ao processo de maturação), 20, o 18 $\alpha(H)$ -22,29,30-trisnormeohopano (Ts, s de "source", termicamente estável, indicador de fonte), 21, o 18 $\alpha(H)$ -28,30-bisnorhopano, 22 e o 17 $\alpha(H)$ -25-norhopano, 23.

20 17 α (H)-Trisnorhopano (Tm)21 18 α (H)-Trisnorhopano (Ts)22 28,30-bisnorhopano23 25-norhopano

O hopano e os hopanóides apresentam em seus espectros de massas cinco íons característicos: o íon molecular (M^+); o íon correspondente à perda de metila ($M-15$); o íon correspondente à perda da cadeia lateral em C-21 ; o íon correspondente ao fragmento constituído pelos anéis A e B com suas respectivas metilas (fragmento AB) e o íon correspondente ao fragmento constituído pelos anéis D e E com suas respectivas metilas e a cadeia lateral em C-21 (fragmento DE). No $\alpha\beta$ -hopano e no moretano ($\beta\alpha$ -hopano) estes dois últimos fragmentos (AB e DE) apresentam o mesmo valor de m/z e, portanto, contribuem para a formação de um único pico (m/z 191) no espectro de massas, que, para ambos os compostos, vem a ser o pico-base.

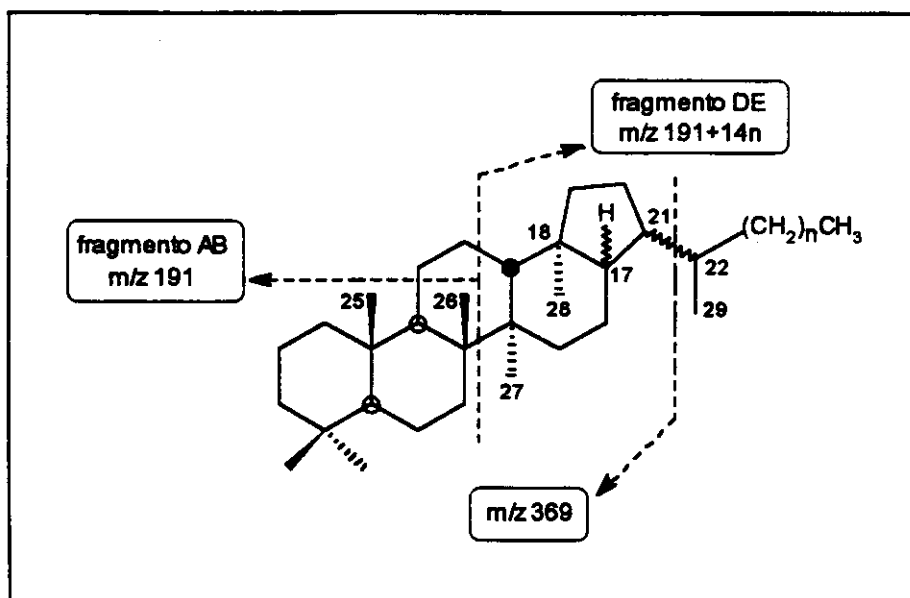


Figura 6: Principais fragmentos de hopanos e homólogos

Nos homohopanos e homomoretanos o fragmento AB apresenta m/z igual a 191 e o fragmento DE apresenta m/z igual a $191+14n$. Para os homohopanos a razão entre as intensidades relativas dos picos correspondentes a estes fragmentos (intensidade do pico AB / intensidade do pico DE) é maior que 1, enquanto que para os homomoretanos esta mesma razão é menor que 1. A menor intensidade do pico correspondente ao fragmento DE no caso dos homohopanos, pode ser justificada pelo fato de que, nesses compostos, a junção dos anéis D/E, contidos nesse fragmento, apresenta geometria cis, que leva a uma menor estabilidade que a junção trans (D/E) observada nos homomoretanos, em analogia aos espectros das decalinas (Budzikiewicz et al., 1964).

Os nor-hopanos apresentam características espectrais específicas. Os compostos da série 25-nor apresentam o fragmento AB com uma metila a menos e, portanto, com m/z igual a 177 ($191-14$). Assim, o RIC m/z 177 é o mais adequado para monitorar esses compostos. O 28,30-Bisnorhopano apresenta o fragmento AB "completo", portanto, com m/z igual a 191, no entanto, apresenta o fragmento DE com duas metilas a menos e, conseqüentemente, com m/z 163 ($191-28$). O 25,28,30-Trisnorhopano apresenta o fragmento AB com uma metila a menos, m/z 177 e o fragmento DE com duas metilas a menos, m/z 163. Já o Ts e Tm que são 22,29,30-trisnor- apresentam o fragmento AB com m/z 191 e o fragmento DE com m/z 149, devido à perda de três metilas ($191-42$).

Com relação aos hopanóides epímeros em C-22, não são observadas diferenças significativas em seus espectros de massas. Uma observação

importante, no entanto, se refere a seus tempos de retenção: o isômero 22S elui sempre primeiro que o isômero 22R.

Os hopanos e hopanóides são monitorados em CG-EM, através do íon m/z 191. A série "25-nor", no entanto, deve ser monitorada através do íon m/z 177.

III.1.1.7. Esteranos

Constituem outro grupo de biomarcadores vastamente utilizados em estudos de correlação de óleos e como indicadores de fonte e evolução térmica, em estudo de rochas e sedimentos (Kimble et al.; 1974; Huang e Meinschein, 1978; Barrick e Hedges, 1981; Mackenzie et al., 1982; Volkman, 1986). Eles são formados a partir da redução dos esteróis, largamente distribuídos em plantas superiores e algas, originalmente incorporados aos sedimentos.

Assim como os hopanóides, os esteranos também apresentam vários centros quirais e, por isso, podem ocorrer como uma variedade de estereoisômeros. A complexidade da distribuição de esteranos em uma amostra geológica é afetada por dois fatores principais: diferenças de fonte e variações devidas a diferenças na maturidade. Os esteranos que predominam em sedimentos e óleos são aqueles correspondentes à C₂₇, C₂₈ e C₂₉ (colestanos, ergostanos e estigmastanos, respectivamente), muito embora, possam ocorrer compostos desde C₁₈ até C₃₀. (Mackenzie et al., 1981a). Em planctons marinhos predominam os esteróis em C₂₇ e C₂₈, enquanto que nos animais e vegetais superiores terrestres predominam os esteróis em C₂₇ e C₂₉. Assim, Huang e Meinschein (1978) propuseram C₂₇ como indicador de contribuição de planctons e C₂₉ como indicador de contribuição de plantas superiores.

Os esteróis presentes em organismos vivos mostram configuração 8 β (H),9 α (H),10 β (CH₃),13 β (CH₃),14 α (H),17 α (H),20R, 24.

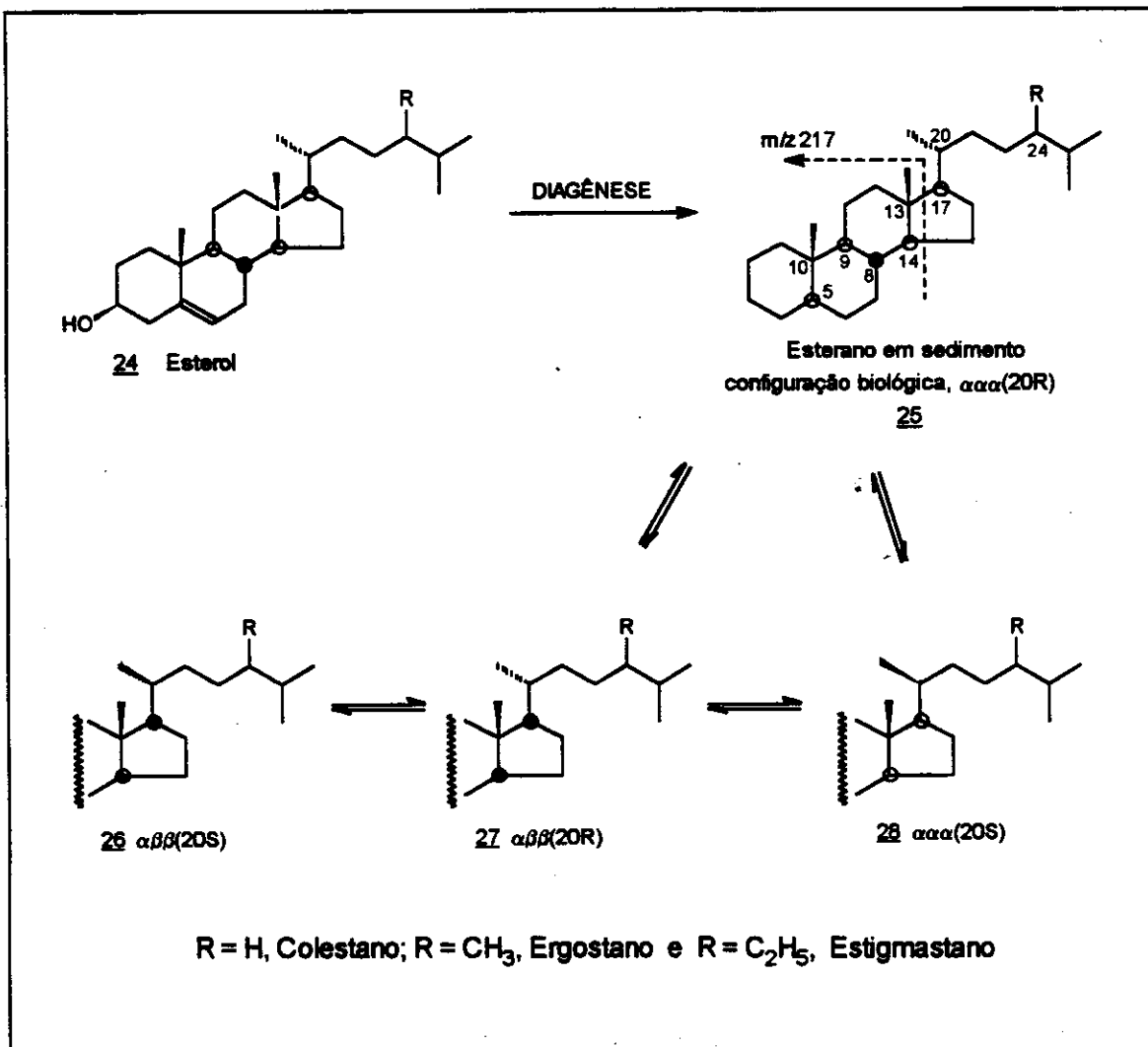


Figura 7: Transformações diagenéticas do colesterol

No decorrer da diagenese e da catagenese, as configurações em C-10 e C-13 não podem ser alteradas porque o mecanismo de estereoisomerização requer que um átomo de hidrogênio esteja ligado ao átomo de carbono assimétrico. A estereoisomerização em C-8 e C-9, também não ocorre porque a configuração biológica dessas posições é energeticamente muito favorecida. As posições C-5 e C-24, quando centros assimétricos, ocorrem, cada uma delas, naturalmente nas duas possíveis configurações; no entanto, em muitos esteróis estas posições são insaturadas e são hidrogenadas na fase inicial da diagenese, levando à formação de mistura de diastereoisômeros, cujas abundâncias relativas dependem de suas estabilidades térmicas. No caso da posição C-5, a configuração $5\alpha(H)$ é favorecida em relação a $5\beta(H)$, numa razão que varia de 2/1 a 10/1.

Os centros assimétricos mais importantes nos esteranos são, portanto, C-14, C-17 e C-20. Em parte por que se localiza na cadeia lateral, livre dos efeitos estéricos impostos pelo sistema cíclico, a configuração biológica 20R é convertida em uma mistura quase equivalente de 20R e 20S, com a razão 20S/(20R+20S) ficando entre 0,52 e 0,55, para os compostos C₂₉, no equilíbrio (Peters e Moldowan, 1993). Enquanto isso, a configuração plana imposta pela estereoquímica 14 α (H),17 α (H) do esterol é perdida em favor da forma termodinamicamente mais estável, 14 β (H),17 β (H). Assim, durante a diagênese, a configuração 5 α (H),14 α (H),17 α (H),20R, " $\alpha\alpha\alpha$ R", 25, própria dos esteróis, isomeriza para configurações termodinamicamente mais estáveis, até atingir, no equilíbrio, uma razão para " $\alpha\alpha\alpha$ R", " $\alpha\alpha\alpha$ S", " $\alpha\beta\beta$ R" e " $\alpha\beta\beta$ S" de cerca de 1:1:3:3 (Peters e Moldowan, 1993). A variação nas concentrações relativas destes isômeros também é atribuída a um processo de degradação seletiva destes compostos (Mello 1988)

Os esteranos apresentam seis íons característicos em seus espectros de massas: o íon correspondente ao fragmento constituído dos anéis A e B com a respectiva metila (fragmento AB); o íon correspondente ao fragmento constituído dos anéis A, B e C com as respectivas metilas (fragmento ABC); o íon correspondente ao fragmento constituído pelos quatro anéis com as metilas, ou seja correspondente à perda da cadeia lateral em C-17 (fragmento ABCD); o íon correspondente a perda do anel A (fragmento BCD), com m/z 261+R; o íon correspondente a perda de uma metila (M-15) e o íon molecular. De todos estes íons, o íon correspondente ao fragmento ABCD é o de menor intensidade e, portanto de visualização mais difícil.

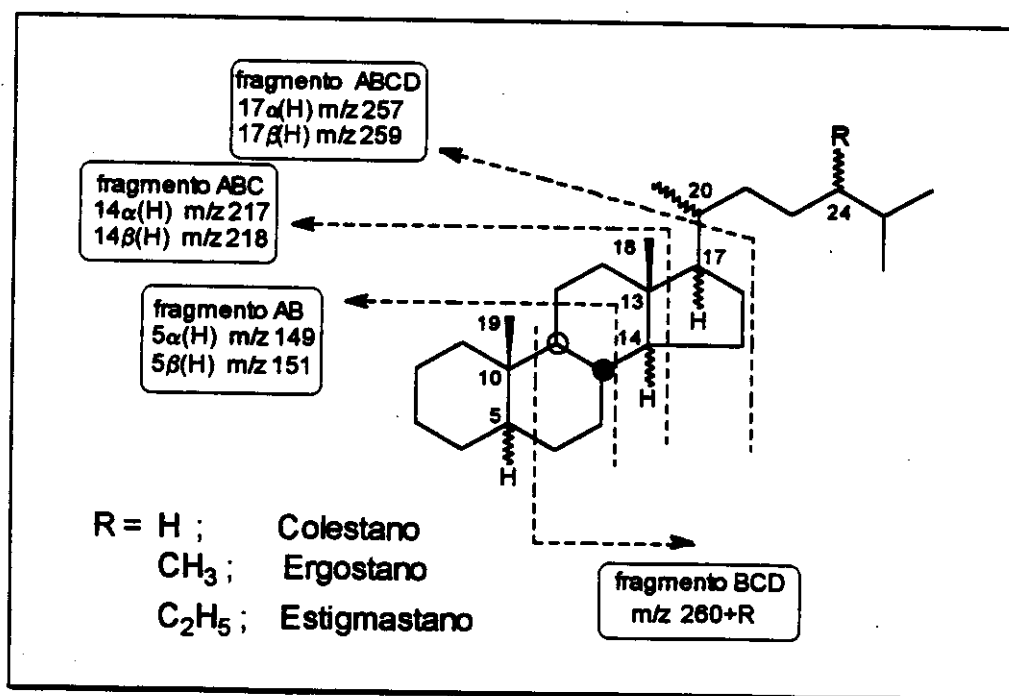


Figura 8: Principais fragmentos de esteranos normais

As massas e, portanto, o valor de m/z dos fragmentos AB e ABC variam com as estereoquímicas dos carbonos C-5 e C-14, respectivamente. O fragmento AB pode apresentar m/z 149 ou 151, sendo, o pico correspondente a m/z 149 mais intenso que o pico correspondente a m/z 151 nos compostos com estereoquímica $5\alpha(H)$ e o pico com m/z 151 mais intenso nos compostos com estereoquímica $5\beta(H)$. Já o fragmento ABC, é quem origina o pico-base nos espectros de massas dos esteranos, podendo apresentar m/z 217 ou 218, sendo, o pico com m/z 217 mais intenso que aquele com m/z 218 nos compostos com estereoquímica $14\alpha(H)$ e o pico com m/z 218 mais intenso nos compostos com estereoquímica $14\beta(H)$. Essas variações de massas desses fragmentos, em função das alterações nas estereoquímicas de C-5 e C-14, podem ser atribuídas ao fato de que essas mudanças de configuração afetam diretamente a geometria das junções entre os anéis A/B e C/D, que têm fundamental importância no processo de formação desses fragmentos.

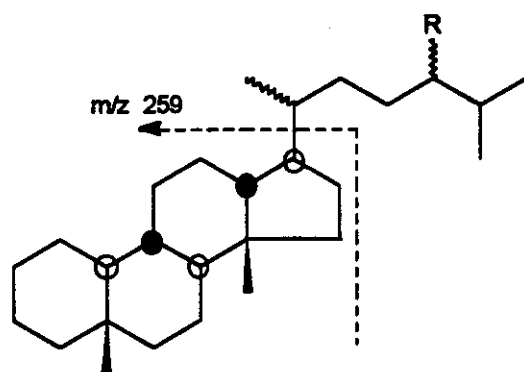
O fragmento BCD (m/z 261+R) é importante para corroborar a identificação dos três grupos de esteranos: colestanos, ergostanos (24-metilcolestanos) e estigmastanos (24-etilcolestanos). Nos colestanos esse fragmento apresenta m/z 262 (R=H), nos ergostanos m/z 276 (R=CH₃) e nos estigmastanos m/z 290 (R=C₂H₅).

Os esteranos normais ocorrem como 20R e 20S. Entre os compostos com configuração " $\alpha\alpha\alpha$ ", o isômero com estereoquímica 20S elui antes daquele com estereoquímica 20R, enquanto que, entre os compostos com configuração " $\alpha\beta\beta$ ", ocorre o contrário, quem elui primeiro é o epímero 20R.

Todos estes compostos são monitorados nas análises por CG-EM, através do íon m/z 217.

III.1.1.8. Diasteranos

Os esteranos, formados por desidratação de esteróis, desempenham um importante papel no estágio intermediário da diagênese. O Δ^2 -esterano, formado inicialmente, isomeriza gradativamente para os mais estáveis Δ^4 - e Δ^5 -esteranos, que podem rearranjar para formar diasteranos (Ensminger et al., 1978), que por redução diagenética produzem **diasteranos**, 29. Estes compostos são mais resistentes aos processos de biodegradação que os esteranos não rearranjados (Ensminger et al., 1978).

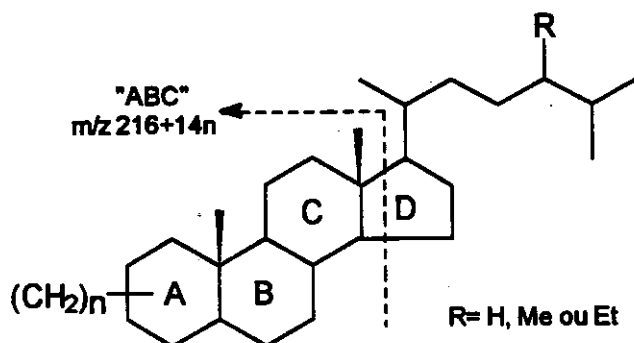
13 β (H),17 α (H)-Diasterano29

Os diasteranos (esteranos rearranjados), também são monitorados através do RIC m/z 217, apresentam espectros de massas muito semelhantes aos esteranos normais, tendo entretanto, como particularidade, a ocorrência do íon m/z 259 com maior intensidade.

III.1.1.9 A-Alquil-esteranos

Recentemente, duas novas séries de derivados de colestanos, ergostanos e estigmastanos têm sido descritas na literatura (Summons e Capon, 1988 e 1991; Dahl et al, 1992), são os 2 α -metil- e os 3 β -alquil-derivados que, juntamente com os 4 α -metil-derivados (Boon et al. 1979; Robinson et al., 1984; Wolf et al.; 1986), formam o grupo dos alquil-esteranos. Em face de não se conhecer produtos naturais análogos a 2- e 3-alquil-esteranos, Dahl et al (1992) propuseram, em estreita analogia com a biossíntese do bacteriohopanotetrol (Ensminger et al.,1972), que estes compostos podem ser formados por bactérias, pela combinação de um Δ^2 -estereno e um açúcar-C₅. 2 α -metil e 3 β -metil-esteranos foram encontrados em óleos derivados de rochas geradoras de diferentes idades e ambientes deposicionais. Summons e Capon (1988 e 1991) caracterizaram o 2 α -metil-, o 3 β -metil e o 3 β -etil-esteranos usando padrões sintéticos. No presente trabalho, uma série de padrões 3 α -alquil-5 β (H)- e 3 β -alquil-5 α (H)-esteranos, com o grupo alquila variando de C₁ a C₄, foram sintetizados e utilizados na caracterização de alquil-esteranos detectados nas amostras de óleos que estudadas. Os 4 α -metil-esteranos, por sua vez, são relativamente comuns na geosfera, particularmente em sedimentos lacustres e são considerados como derivados de dinoflagelados (Boon et al. 1979; Robinson et al., 1984).

Os espectros de massas desses compostos são semelhantes aos dos esteranos normais não alquilados, apresentando como diferença o acréscimo de massa correspondente ao grupo alquil em todos os fragmentos que contêm o anel A. Em CG-EM, eles são monitorados através do íon m/z $217+14n$, onde n corresponde ao número de carbonos do grupo alquila.



30 Estrutura genérica dos A-alkil-esteranos

III.1.2. Aplicação de Biomarcadores Saturados como parâmetros de correlação, de fonte e ambiente deposicional, de maturação, de migração e de biodegradação

Os hidrocarbonetos saturados são os compostos orgânicos mais empregados como indicadores geoquímicos moleculares. Isto significa dizer que esses compostos podem fornecer informações sobre processos geoquímicos em ação na matéria orgânica sedimentar (Aquino Neto, 1984; Mello, 1988; Trindade, 1992).

Dependendo do tipo de informação que podem fornecer, esses indicadores podem ser classificados em cinco tipos distintos:

Indicadores de correlação (de identidade);

Indicadores de paleoecologia (de fonte e/ou de ambiente deposicional);

Indicadores de maturação;

Indicadores de migração e

Indicadores de biodegradação

III.1.2.1. Correlação

A grande variedade de estrutura dos compostos orgânicos identificados em sedimentos indica que diferentes rochas sedimentares podem apresentar composição química diversa para, ao menos, um grupo de compostos. Tal fato é empregado na correlação entre diferentes amostras de óleos de uma mesma bacia sedimentar, ou na comparação de óleos com a matéria orgânica de rochas-geradoras potenciais (Aquino Neto, 1984).

As correlações "genéticas" de petróleos (correlações entre petróleo e rocha-geradora) são baseadas no princípio de que a composição de constituintes orgânicos de uma rocha geradora é transmitida ao óleo. Esta "similaridade hereditária", pode variar desde propriedades mais gerais, tal como composição isotópica de carbono, até a razão de componentes individuais, como a relação pristano/fitano

Independente do parâmetro utilizado, uma regra básica deve ser considerada para toda correlação: uma correlação positiva não é necessariamente uma prova de que as amostras são concorrentes. Por exemplo, rochas geradoras podem mostrar características similares. Um betume em uma rocha pode parecer similar a um óleo, até posterior análise mostrar que outro betume de um diferente estrato é mais similar a este óleo. Por outro lado uma correlação negativa é forte evidência de ausência de

parentesco entre as amostras. A correlação entre amostras toma-se mais segura, quanto mais parâmetros são usados (Peters e Moldowan, 1993).

III.1.2.2. Paleoecologia

A caracterização da paleoecologia pode ser subdividida em dois aspectos: paleobiologia e paleoambiente de deposição (Aquino Neto, 1984).

Os compostos indicadores de paleobiologia são aqueles cujas estruturas podem ser correlacionadas biunivocamente a uma, ou a um número limitado de espécies de microorganismos ou vegetais. A presença de um composto desses seria assim indicativa da contribuição de um dado organismo à formação de matéria orgânica preservada no sedimento. A falta de bioespecificidade da maioria dos compostos encontrados em sedimentos, reduz esta aplicação a uns poucos exemplos, ainda sujeitos a revisão à medida que evolui o conhecimento molecular sobre os seres vivos.

Para ser utilizado como indicador de paleoambiente de deposição, um composto deve incorporar particularidades que se relacionem, por exemplo, o paleoclima e o potencial redox durante a sedimentação. β -caroteno é característico de organismos que ocorrem em ambientes salinos e assim, quando ocorre em sedimentos, é um indicador deste ambiente.

III.1.2.3. Maturação

A maturação térmica retrata a extensão com que as reações dirigidas por calor convertem a matéria orgânica sedimentar em petróleo. A conversão da matéria orgânica em petróleo envolve duas fases: a **diagênese** e a **catagênese** (Tissot e Welte, 1984). O termo **diagênese** se refere às alterações biológicas, físicas e químicas que a matéria orgânica sofre em sedimentos em temperaturas inferiores a 50°C. Nessa fase os "restos" de plantas e animais são convertidos em querogênio e betume, que passam a ser os constituintes da rocha sedimentar. A **catagênese** é o processo pelo qual a matéria orgânica na rocha é termicamente alterada por aterramento e aquecimento a temperaturas na faixa de 50 a 150°C, requerendo milhões de anos para isso. Nessa fase, o querogênio e o betume são convertidos em petróleo e gás. Pode-se, então, definir o petróleo como uma mistura complexa de compostos meta-estáveis que evolui para uma maior estabilidade termodinâmica durante a maturação. Estas alterações devidas à maturação envolvem principalmente reações de craqueamento, estereoisomerizações, reações de aromatização. Assim os indicadores mais comuns de maturação térmica são as razões entre certos biomarcadores saturados e/ou aromáticos.

III.1.2.4. Migração

A migração de óleo da rocha-geradora para à rocha reservatório é um processo consagrado ao qual se atribui a formação da maioria das acumulações de petróleo. O estudo dos indicadores geoquímicos de migração e o conhecimento geológico da bacia, permitem o estabelecimento das vias de migração e através delas pode-se rastrear o percurso do óleo, desde sua geradora (Souto Filho, 1994).

Outra aplicação prática resulta da caracterização da rota de migração, após a correlação óleo/rocha-geradora. A partir desse conhecimento, possíveis bifurcações na rota podem ser previstas geologicamente, conduzindo a proposição de novas acumulações na bacia.

Algumas propriedades, tais como: solubilidade nos fluidos do sedimento e interação com a matéria orgânica e inorgânica do sedimento original daqueles presentes ao longo do percurso de migração, podem diferenciar a capacidade de migração de certas moléculas. (Aquino Neto, 1984).

III.1.2.5. Biodegradação

As dificuldades crescentes de localização de óleos leves, tem levado as companhias petrolíferas a procurar viabilizar a pesquisa e recuperação de óleos alterados. A forma de alteração reconhecida como a mais generalizada é a biodegradação. Essa alteração ocorre, geralmente, pela introdução de bactérias e oxigênio na rocha reservatório, através das águas meteóricas. As bactérias atacam o petróleo, consumindo, preferencialmente, estruturas compatíveis com seus metabolismos. A ordem de preferência comumente encontrada é: hidrocarbonetos lineares, ramificados, isoprenóides e ciclanos.

Tem-se associado a processos biodegradativos, a geração de cicloalcanos (especialmente triterpanos) com esqueletos modificados em relação às estruturas comuns aos seres vivos: triterpanos desmetilados ou com anel seccionado são os mais representativos (Aquino Neto, 1984). No entanto, a possibilidade de que estes esqueletos sejam produzidos diretamente por organismos vivos não pode ser descartada e, nesse caso, sua detecção nos sedimentos seria uma consequência do consumo das estruturas usuais pelas bactérias, levando a uma concentração das estruturas anormais, menos susceptíveis ao ataque das bactérias (Aquino Neto, 1984).

III.1.2.6. Parâmetros mais utilizados como indicadores geoquímicos

A seguir, são comentados, de maneira breve, os principais desses parâmetros que envolvem biomarcadores saturados.

Razão Isoprenóides/parafinas: essa razão em geral, assim como as razões pristano/ n -C₁₇ e fitano/ n -C₁₈ decrescem com o crescimento da maturação, uma vez que mais n -alcanos são gerados por craqueamento do querogênio

Razão pristano/fitano (P/F): é a relação direta entre as abundâncias de pristano (C₁₉) e fitano (C₂₀). Uma razão P/F maior que 1 sugere ambiente deposicional oxidante, enquanto que uma razão P/F menor que 1 sugere ambiente deposicional redutor. Esta inferência sobre oxicidade do ambiente deposicional, no entanto, deve ser sempre suportada por outros dados geoquímicos, tais como, teor de enxofre e índice de homohopanos.

Perfil do RIC m/z 191: o RIC m/z 191 mostra, em conjunto, a distribuição dos terpanos tricíclicos, tetracíclicos e pentacíclicos (hopanos e outros). Esses compostos têm origem bacteriana e como as bactérias são ubíquas em sedimentos, eles são encontrados em quase todos os óleos. Esse parâmetro é muito usado para correlação óleo/óleo e óleo/rocha geradora, uma vez que reflete o ambiente deposicional e o "input" de matéria orgânica. Diferentes perfis de m/z 191 correspondem a diferentes ambientes deposicionais de rochas geradoras, no entanto, ambientes deposicionais diferentes podem apresentar perfis semelhantes.

Índice de homohopanos: é a razão C₃₅/(C₃₁ a C₃₅), normalmente expressa como porcentagem. Esse parâmetro é frequentemente aplicado como indicador de oxicidade de ambientes marinhos, durante a diagênese; no entanto, é importante lembrar que este índice também é afetado pela maturação. Índices elevados em óleos de maturidade similar indica ambiente deposicional marinho, altamente redutor, sem oxigênio livre disponível, uma vez que, na presença de oxigênio livre, o precursor bacteriohopanotetrol é oxidado ao ácido-C₃₂ que poderá sofrer descarboxilação formando C₃₁ ou, se todo oxigênio tiver sido consumido, ser preservado como o homólogo C₃₂, o que, em qualquer dos casos levará a uma diminuição no índice de homohopanos. Este índice é medido no RIC m/z 191.

Razão Ts/(Ts+Tm): este parâmetro é dependente da fonte e da maturação da amostra, uma vez que o Ts é termicamente mais estável, sendo um indicador de fonte e o Tm é sensível ao processo de maturação. Em amostras oriundas de mesma fonte, esta razão cresce com a maturação. Ela pode ser determinada a partir do RIC m/z 191; no entanto, esse cálculo pode ser prejudicado pela ocorrência de co-eluição de Ts e Tm com terpanos tricíclicos e tetracíclicos. Neste caso, a determinação pode ser feita a partir do RIC m/z 370 que corresponde ao íon molecular de ambos os compostos.

Índice de gamacerano: é dado pela relação entre as abundâncias de gamacerano e 17 α (H)21 β (H)-hopano (gamacerano/C₃₀-hopano). O

gamacerano é considerado um marcador para ambientes deposicionais altamente salinos, marinhos ou não-marinhos e, portanto, este parâmetro é específico para indicar condições hipersalinas. Ele é calculado a partir dos RICs m/z 191 ou m/z 412.

Índice de oleanano: é a razão entre as abundâncias de $18\alpha(H)$ -oleanano e $17\alpha(H)21\beta(H)$ -hopano (oleanano/ C_{30} -hopano). Este parâmetro é altamente específico para indicar contribuição de plantas superiores em amostras datadas do Cretáceo ou mais recentes. O uso deste índice na comparação de amostras mostrando grande diferença de maturidade pode ser complicado pela presença, em betumes imaturos, de $18\beta(H)$ -oleanano que, com a maturação isomeriza para $18\alpha(H)$. No caso da ocorrência dos dois isômeros, a abundância de ambos deve ser considerada. Esse parâmetro também é calculado, utilizando o RIC m/z 191.

Razão $22S/(22S+22R)$ em homohopanos: a epimerização na posição C-22 dos homohopanos ocorre antes que muitas reações usadas como indicativas de maturidade de óleos e betumes, tal como a isomerização da posição C-20 dos esteranos normais (Ensminger et al., 1978). Portanto, esta razão é muito apropriada para diferenciar estágios iniciais de maturação. A configuração biológica 22R é gradualmente convertida em uma mistura 22R+22S, atingindo, no equilíbrio, valores entre 0,57 e 0,62. Esta relação é calculada a partir do RIC m/z 191, usando-se para tanto as abundâncias relativas de quaisquer dos pares de epímeros de C_{31} a C_{35} , mais comumente, C_{31} ou C_{32} .

Razão $\beta\alpha$ -moretano/ $\alpha\beta$ -hopano: esta razão também é calculada a partir do RIC m/z 191. A configuração biológica dos hopanos é $\beta\beta$ (17β , 21β) e durante a diagênese, a temperatura atingida proporciona energia suficiente para superar a barreira de conversão desta configuração nas termodinamicamente mais estáveis $\alpha\beta$ e $\beta\alpha$. À temperaturas mais elevadas estas duas configurações podem ser interconvertidas, via a configuração $\beta\beta$, em favor da mais estável de todas que é a $\alpha\beta$, assim, com a maturação, a razão $\beta\alpha$ -moretano/($\beta\alpha$ moretano + $\alpha\beta$ -hopano) decresce de 0,8 em sedimentos imaturos a 0,15 em rochas maduras, atingindo um mínimo de 0,05 em óleos (Mackenzie et al., 1981a e Seifert e Moldowan, 1981). A variação nas concentrações relativas destes isômeros também é atribuída a um processo de degradação seletiva destes compostos (Mello 1988) Os compostos frequentemente usados para o cálculo desta razão são os próprios C_{30} -moretano e C_{30} -hopano; no entanto, podem ser usados os homólogos anteriores, C_{29} , ou ainda uma combinação de ambos, C_{29} e C_{30} .

Razão $20S/(20S+20R)$ em esteranos normais : no processo de maturação, o esteranos normais sofrem uma crescente isomerização de C-20, que passa de sua configuração biológica 20R para 20S. No caso dos

compostos C_{29} com configuração " $\alpha\alpha\alpha$ " [$5\alpha(H), 14\alpha(H), 17\alpha(H)$] este fato provoca uma mudança na razão $20S/(20S+20R)$ que varia de zero até cerca de 0,55 (Seifert e Moldowan, 1981) e, portanto, é um parâmetro que pode ser utilizado na avaliação do estágio de maturação de uma amostra. Esta razão é calculada a partir das abundâncias relativas destes epímeros no RIC m/z 217.

Razão $\beta\beta/(\beta\beta+\alpha\alpha)$ em esteranos normais: este é outro índice calculado a partir das abundâncias relativas de isômeros no RIC m/z 217 e também se trata de um parâmetro indicativo de maturação. A isomerização, decorrente da maturação, de C-14 e C-17, nos esteranos regulares, que passa da configuração biológica $\alpha\alpha$ para $\beta\beta$ provoca uma variação na razão $\beta\beta/(\beta\beta+\alpha\alpha)$, que no esterano C_{29} se estende de zero até cerca de 0.7 (Seifert e Moldowan, 1981). A variação nas concentrações relativas destes isômeros também é atribuída a um processo de degradação seletiva destes compostos (Mello 1988)

Há outros parâmetros de correlação, fonte e ambiente deposicional que não envolvem biomarcadores. Dentre eles podem ser destacados: a razão de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}C$), o carbono orgânico total (TOC), o teor de enxofre (%) e a razão níquel/vanádio (Ni/Va).

Uma discussão mais detalhada acerca do significado e da utilização destes parâmetros pode ser encontrada em Peters e Moldowan (1993) e Melo (1988).

III. ESTUDO DOS CONSTITUINTES NEUTROS SATURADOS

III.2. DISCUSSÃO

O Setor de Geoquímica do Centro de Pesquisas da PETROBRAS (CENPES) realiza, rotineiramente, o estudo das frações neutras de óleos das bacias sedimentares brasileiras. Os óleos A, B, C e D, objeto de estudo deste trabalho, também foram analisados naquele centro de pesquisas, sendo detectados e identificados grande parte dos compostos listados nas tabelas 4, 5 e 7. Estes compostos foram detectados através dos fragmentogramas m/z 191 e m/z 217 (figuras 9 e 10, respectivamente), obtidos a partir da análise por CG-EM dessas amostras.

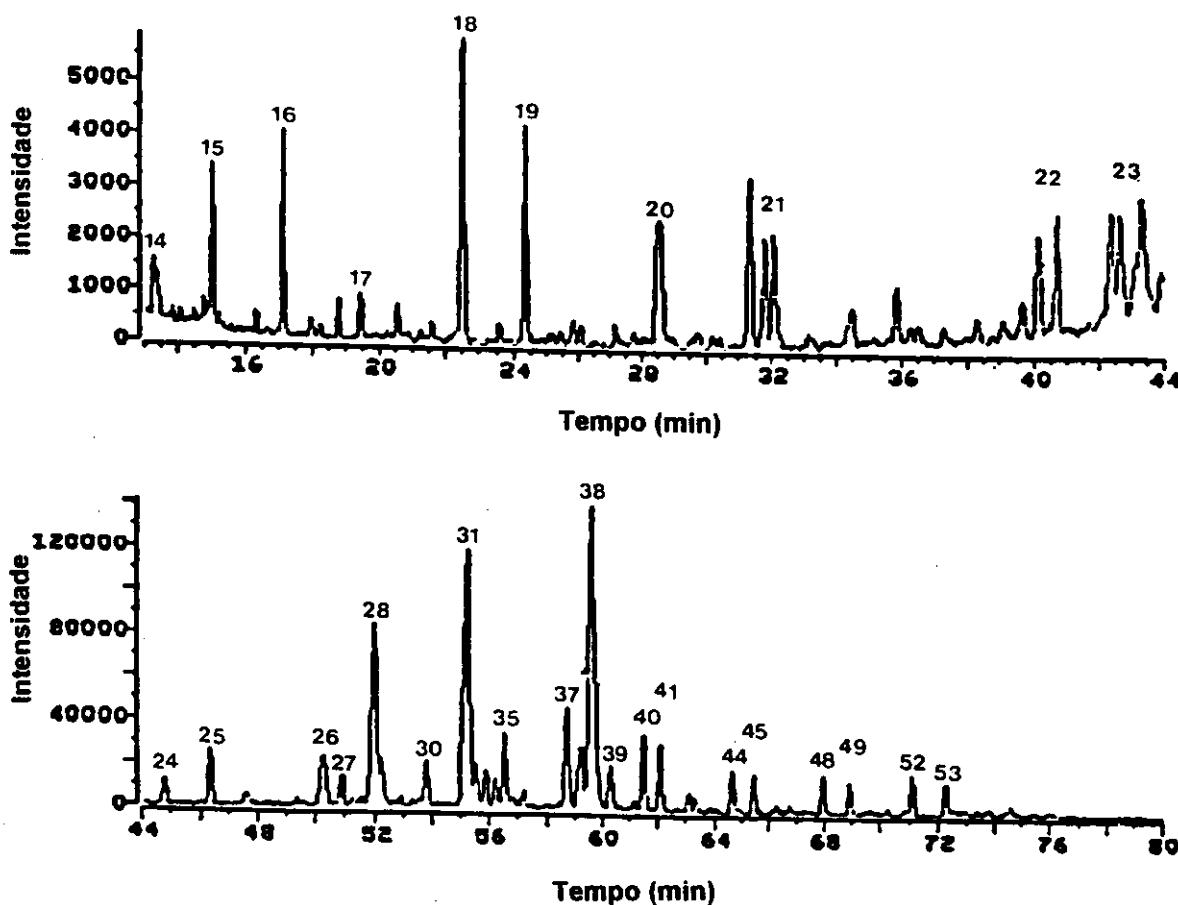


Figura 9: RIC m/z 191, da fração neutra do óleo A (CENPES)

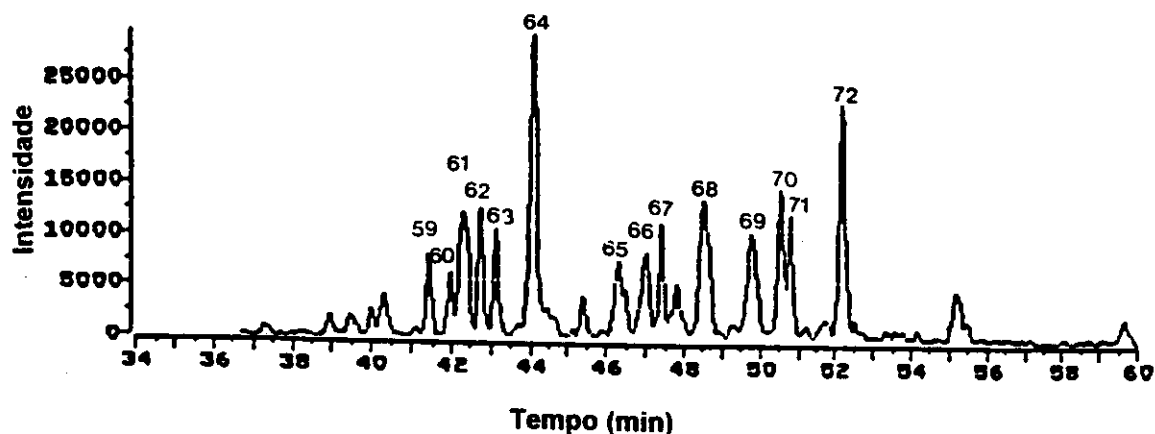


Figura 10: RIC m/z 217, da fração neutra do óleo A (CENPES)

Com o objetivo de avaliar a metodologia empregada neste estudo e, também, para obter mais informações que, adicionadas às informações da PETROBRAS / CENPES / CEGEQ, pudessem servir de parâmetro de comparação com os dados obtidos no estudo da fração ácida, o estudo dos constituintes neutros desses óleos foi feito, analisando por CG e CG-EM as frações correspondentes aos hidrocarbonetos alifáticos saturados (frações HAL), obtidas de cada uma das amostras, segundo o fluxograma 1 (pag. 6).

Em concordância com os resultados obtidos pela Petrobras, todas as amostras apresentaram, na análise por CG destas frações, perfis muito semelhantes, com todas elas apresentando características de óleos em elevado estágio de biodegradação, uma vez que observou-se em todos os cromatogramas a preservação apenas dos cicloalcanos, com a quase total ausência dos demais saturados (figura 11).

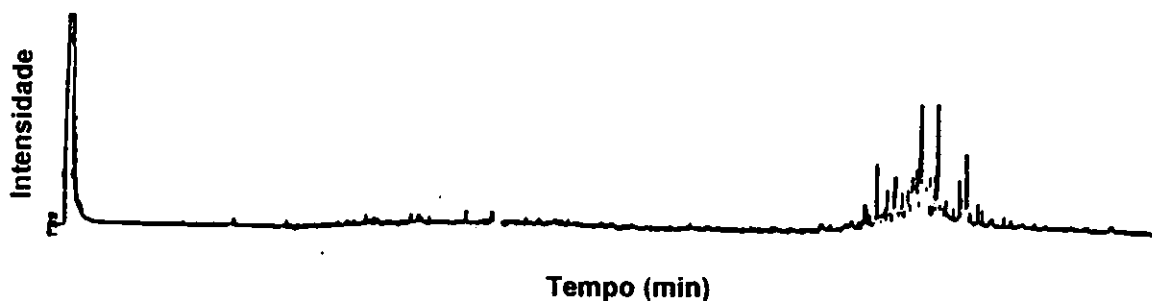


Figura 11: Cromatograma da fração neutra (HAL) do óleo A

Em face disto, a análise por CG-EM dessas frações, foi dirigida no sentido da pesquisa de biomarcadores cíclicos, concentrando o trabalho no estudo dos RICs usados para o monitoramento destes biomarcadores. Foram analisados os RICs m/z 123 para a pesquisa de bicíclicos; m/z 259 e 274 para a pesquisa de diterpanos tetracíclicos; m/z 191 para a pesquisa de terpanos tricíclicos e pentacíclicos; m/z 205, 219, 233, 247, 261 e 275 para confirmação da ocorrência de homohopanos e homomoretanos; m/z 217 para a pesquisa de esteranos e diasteranos e m/z 231, 245, 259, 273, 287 e 301 para pesquisa de alquil-esteranos e m/z 262, 276 e 290, para confirmação da classificação dos esteranos em colestanos, ergostanos (24-metil-colestanos) e estigmastanos (24-etil-colestanos).

Cada um dos RICs mostrou perfil similar para as quatro amostras, confirmando uma origem comum destes óleos, como pode ser visto na figura 12, que mostra os RICs m/z 191 dos óleos A, B, C e D. A análise dos espectros de massas e das áreas correspondentes aos picos que constituem esses RICs, indica que essas amostras contêm os mesmos compostos e em abundâncias relativas muito semelhantes. Assim, os comentários que seguem se referem, genericamente, aos quatro óleos estudado e, nas figuras que mostram os picos referentes aos diversos compostos identificados, são apresentados os RICs de apenas uma das amostras.

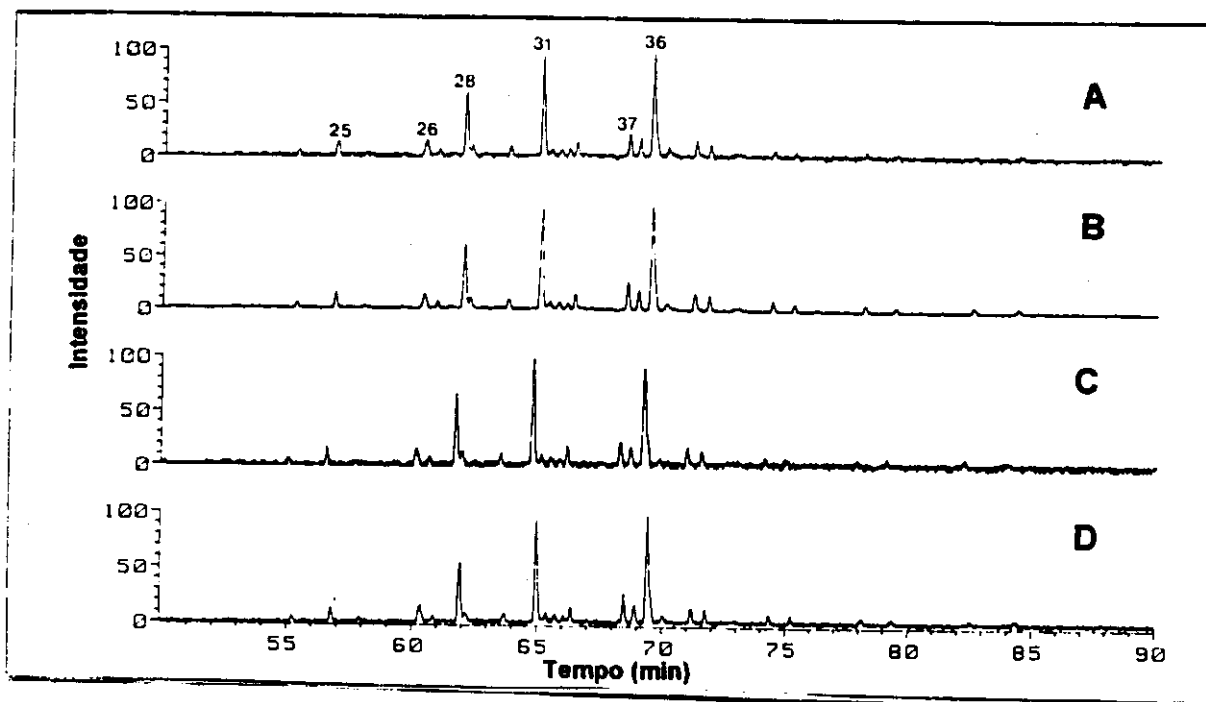


Figura 12: RIC m/z 191 das frações neutras dos óleos A, B, C e D.

III.2.1. Bicíclicos

A análise do RIC m/z 123 (figura 13), mostrou a ocorrência de um grupo de bicíclicos da classe dos drimanos, já descritos na literatura (Philp et al., 1981; Alexander et al., 1983 e 1984) e também detectados por Rebouças (1992) em óleos da bacia de Campos. Esses compostos estão listados na tabela 2. A atribuição desses compostos aos correspondentes picos foi feita com base na comparação de seus espectros de massas com dados da literatura (Alexander et al., 1983) bem como pela observação de seus tempos de retenção relativos.

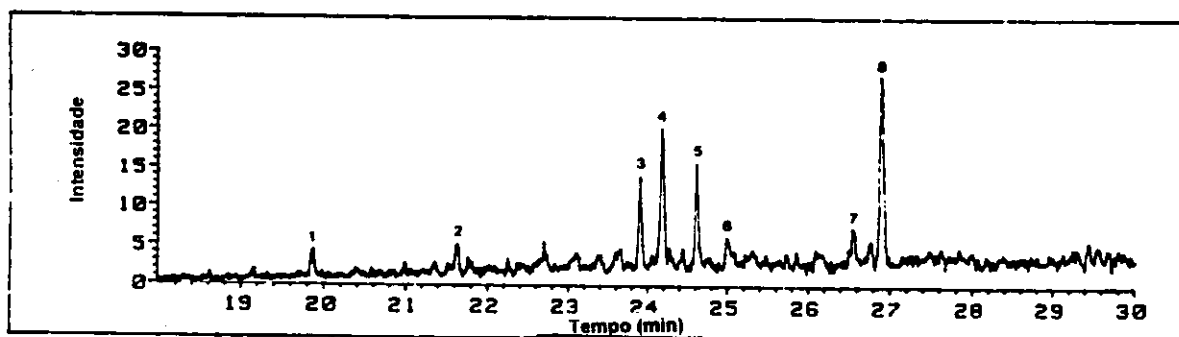


Figura 13: RIC m/z 123 da fração neutra do óleo A

Tabela 2: Terpanos bicíclicos detectados através do RIC m/z 123 da fração HAL (figura 13)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
01	Nordrimano rearranjado (C ₁₄)	179	179	194
02	Nordrimano (C ₁₄)	123	179	194
03	Drimano rearranjado (C ₁₅)	193	193	208
04	Drimano rearranjado (C ₁₅)	193	193	208
05	Drimano (C ₁₅)	123	193	208
06	Drimano (C ₁₅)	123	193	208
07	Homodrimano rearranjado (C ₁₆)	207	207	222
08	Homodrimano (C ₁₆)	123	207	222

- (1) PB = íon correspondente ao pico-base;
 (2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;
 (3) M⁺ = íon molecular

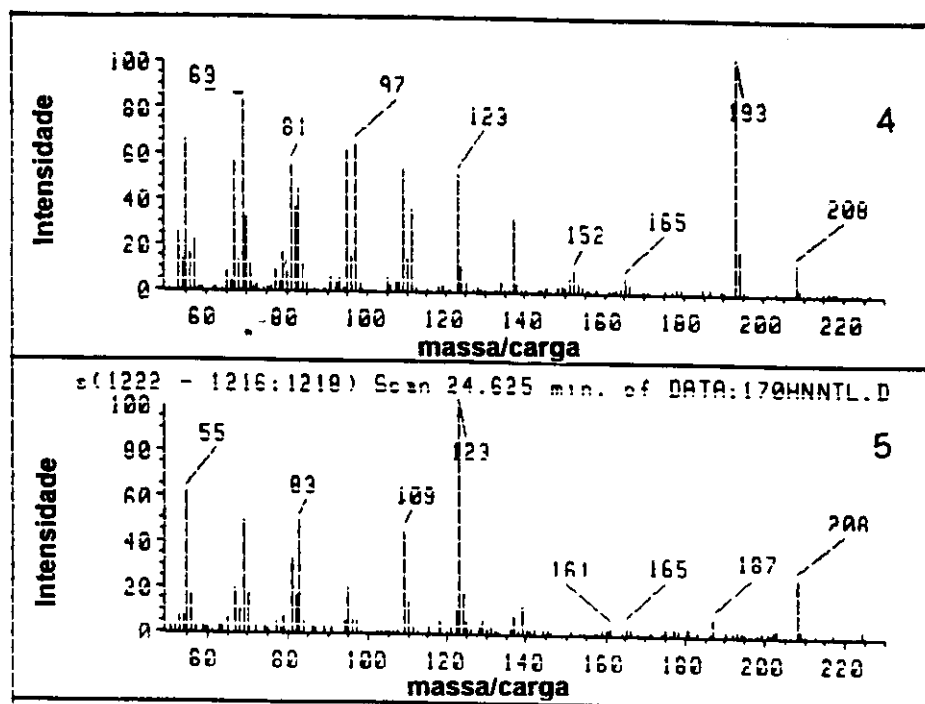


Figura 14: espectros de massas correspondentes aos picos 4 e 5 da figura 13.

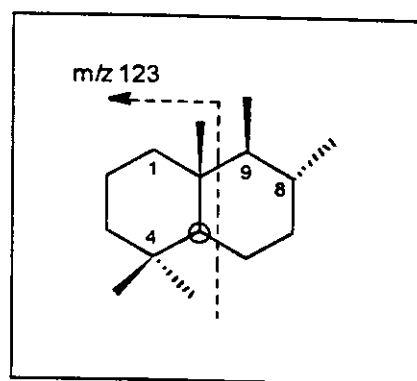


Figura 15: Estrutura do 8 β (H)-drimano destacando o fragmento com m/z 123

Os drimanos não rearranjados apresentam como características espectrais, três principais picos: aquele correspondente ao íon molecular (m/z 194 para os nordrimanos, m/z 208 para os drimanos e m/z 222, para os homodrimanos); o correspondente à perda de metila (m/z 179 para os nordrimanos, m/z 193 para os drimanos e m/z 207 para os homodrimanos) e o pico-base com m/z 123 (figura 15). Já os compostos com esqueletos rearranjados apresentam como pico-base, aquele correspondente à perda de metila (M-15) e apresenta também o íon m/z 109 mais abundante que o

m/z 123. Na figura 14, são apresentados os espectros de massas dos compostos correspondentes aos picos 4 e 5 da figura 13.

A presença de drimanos em um óleo não tem um significado especial uma vez que estes compostos se encontram vastamente distribuídos em amostras geológicas de diversas idades e origens. No entanto, Noble e colaboradores (1987) discutem o processo de epimerização destes compostos em C-8 e propõem uma relação direta entre profundidade de sedimentação - e por conseqüência, nível de maturação do sedimento - e as abundâncias relativas de $8\beta(H)$ - e $8\alpha(H)$ -drimanos. Segundo os autores a configuração biológica é $8\alpha(H)$, que apresenta o grupo metila ligado a C-8 em posição axial, que com a maturação isomeriza para a configuração $8\beta(H)$, termodinamicamente mais estável, onde o mesmo grupo metila ocupa agora uma posição equatorial. Alexander e colaboradores (1984) publicaram o resultado da pesquisa de biciclos em um óleo da Arábia Saudita onde são detectados drimanos apenas com a configuração $8\beta(H)$. Por comparação dos espectros de massas e dos tempos de retenção relativos dos drimanos publicados naquele trabalho e estes detectados no presente trabalho, propõe-se, para os compostos detectados, a configuração $8\beta(H)$, apesar das amostras estudadas não serem termicamente muito evoluídas, conforme indicam os parâmetros apresentados nas tabelas 6 e 8, mostradas mais adiante

1.2.2. Diterpanos tetracíclicos

A análise dos RICs m/z 259 (figura 16) e 274 nos forneceu indícios da ocorrência dos diterpanos tetracíclicos listados na tabela 3. Infelizmente, os picos correspondentes a estes compostos mostraram intensidades muito baixas, comprometendo a qualidade de seus espectros de massas, mesmo quando se utilizava o recurso da subtração do *background*. Como indícios da ocorrência desses compostos, consideramos a semelhança dos perfis desses cromatogramas com aqueles apresentado nos trabalhos de Noble e colaboradores (1985 b e 1985c), realizados nas mesmas condições de análise e os espectros de massas (figura 17) que, mesmo não apresentando qualidade satisfatória, mostraram algumas características particulares que possibilitaram a atribuição das estruturas dos compostos correspondentes aos picos de 9 a 13 (figura 11).

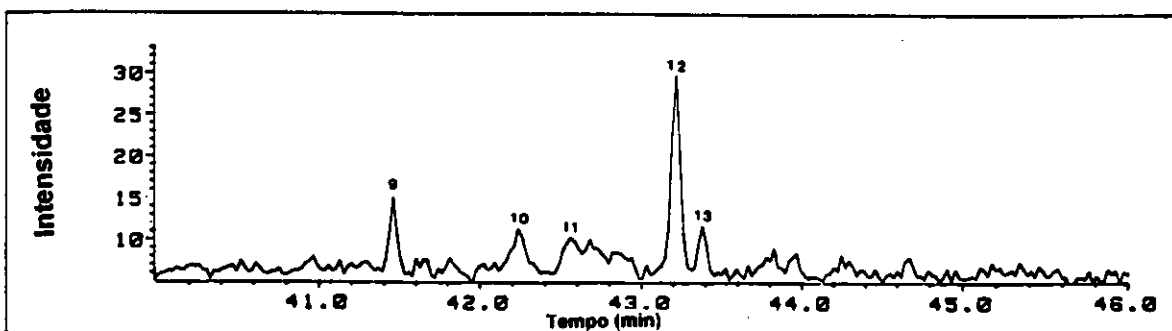


Figura 16: RIC m/z 259, da fração neutra do óleo A

Tabela 3: Terpenos tetracíclicos detectados através do RIC m/z 259 da fração HAL (fig.16)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
09	Beierano (C ₂₀)	123	259	274
10	Filocladano (C ₂₀)	123	259	274
11	Kaurano (C ₂₀)	123	259	274
12	Filocladano (C ₂₀)	123	259	274
13	Kaurano (C ₂₀)	123	259	274

- (1) PB = íon correspondente ao pico-base;
- (2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;
- (3) M⁺ = íon molecular

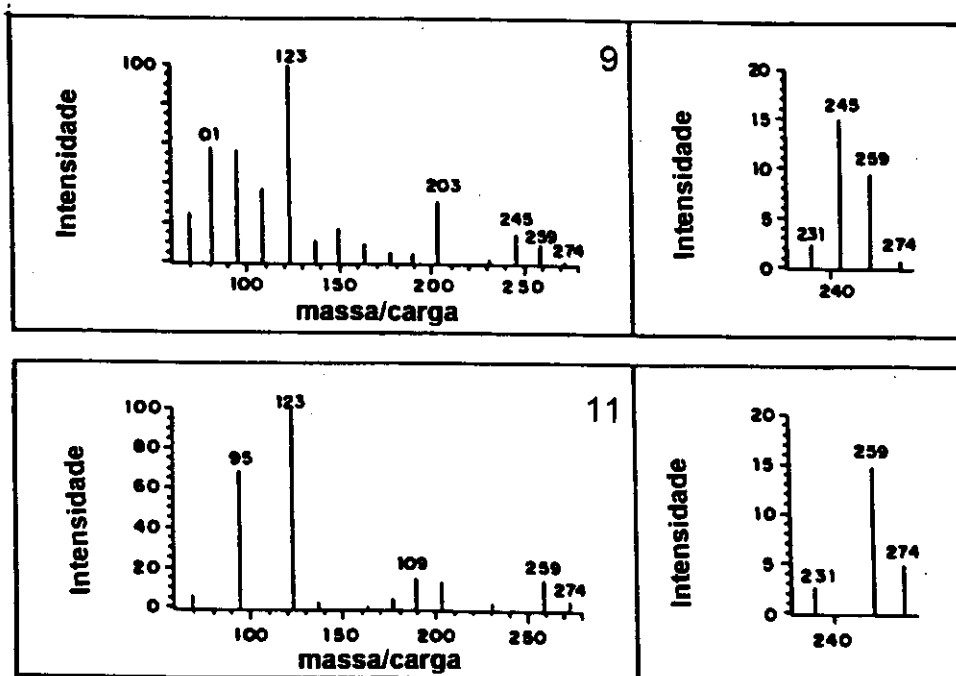


Figura 17: espectros de massas e espectros de massas ampliados correspondentes aos picos de números 9 e 11, na figura 16

Essas atribuições se basearam nos fatos comentados a seguir. O beierano se diferencia dos outros quatro isômeros por ser o único a apresentar em seu espectro de massas um pico de m/z 245, visto que, somente neste composto a metila-17 se encontra ligada ao carbono-13, na junção dos anéis C e D, possibilitando a formação de um íon com m/z 245, através da perda de C-15 e C-16 (figura 18) Kauranos e filocladanos apresentam espectros de massas muito similares, no entanto, a diferenciação entre eles pode ser feita com base nas abundâncias relativas dos íons m/z 231 e 259. A razão 231/259 é maior para os filocladanos (acima de 0,5) que para os kauranos (menor que 0,35), Noble et al., 1985c.

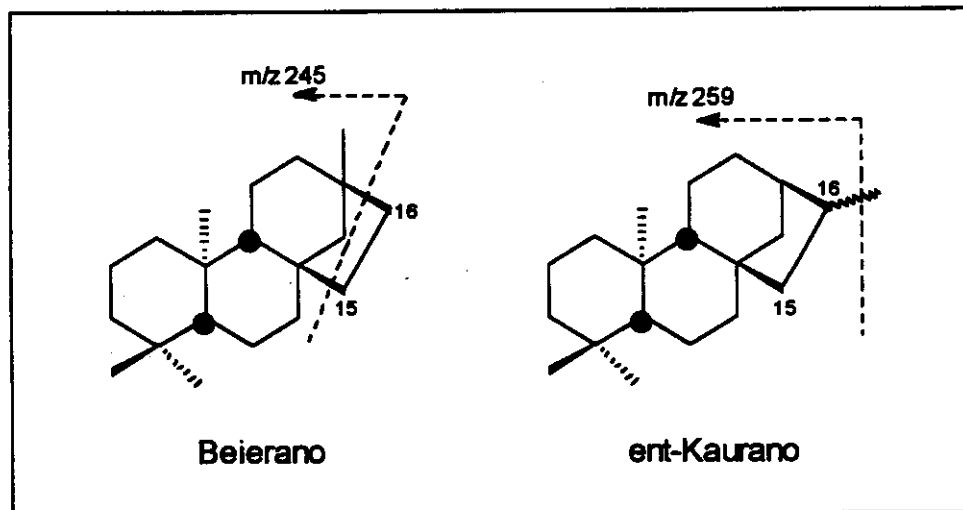


Figura 18: Estrutura de beierano e ent-kaurano destacando os fragmentos com m/z 245 e 259

A presença desses tetraciclos nessas amostras, sugerem que em algum momento houve uma contribuição de ambiente terrestre na formação dos sedimentos que deram origem a estes óleos, uma vez que seus precursores biológicos ocorrem apenas em plantas superiores.

III.2.3. Terpanos tricíclicos e pentacíclicos

Na análise RIC m/z 191, já estudado no CENPES (figura 9), reproduzimos os mesmos resultados obtidos naquele centro de pesquisas, detectando os mesmos compostos listados nas tabelas 4 e 5.

Os compostos detectados através do RIC m/z 191 e identificados como sendo tricíclicos, apresentam como características espectrais, o íon m/z 191 como pico base, o íon m/z 123, o íon correspondente à perda de metila (M-15) e o íon molecular (M+) com m/z igual a $14n-4$, onde "n" corresponde ao número de carbonos na molécula. Essas características são concordantes com os espectros de massas dos tricíclicos da classe dos

queilantanos. A figura 19, mostra uma seção do RIC 191 contendo os picos correspondentes a estes triciclos.

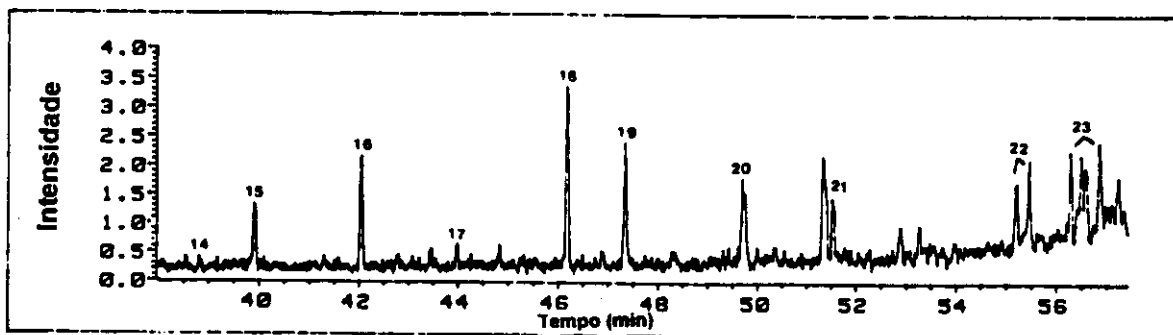


Figura 19: RIC 191 (terpanos tricíclicos) da fração HAL do óleo A

Tabela 4: Terpanos tricíclicos detectados através do RIC m/z 191 da fração HAL (figura 19)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
14	tricíclico em C ₁₉	191	247	262
15	tricíclico em C ₂₀	191	261	276
16	tricíclico em C ₂₁	191	275	290
17	tricíclico em C ₂₂	191	289	304
18	tricíclico em C ₂₃	191	303	318
19	tricíclico em C ₂₄	191	317	332
20	tricíclico em C ₂₅	191	331	346
21	tricíclico em C ₂₆ (S e R)	191	345	360
22	tricíclico em C ₂₈ (S e R)	191	373	388
23	tricíclico em C ₂₉ (S e R)	191	387	402

- (1) PB = íon correspondente ao pico-base;
- (2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;
- (3) M⁺ = íon molecular

Os compostos identificados como pentacíclicos hopano e hopanóides, também detectados através do RIC m/z 191 (figura 20), apresentam em seus espectros de massas todos os íons característicos dessa classe de compostos, discutidos na seção III.1.1.6. (pag. 15).

O composto mais abundante no RIC m/z 191 dessas amostras foi o gamacerano, que apresenta como pico-base em seu espectro de massas, aquele correspondente a m/z 191. Assim como o hopano, o gamacerano também produz, na ionização por impacto de elétrons, dois importantes fragmentos com m/z 191, o que contribui para a ocorrência de um pico-base com esse valor de m/z; no entanto, diferentemente dos hopanóides, ele não

apresenta o íon com m/z 369, uma vez que não possui a cadeia lateral em C-21, característica dos hopanóides e seu anel E contém seis átomos de carbonos e não cinco como no hopano e seus derivados. O alto teor relativo de gamacerano, observado no RIC m/z 191, é característico de amostras oriundas de ambientes deposicional de alta salinidade (Mello, 1988).

Também através da análise do RIC m/z 191, foi detectada a ocorrência de séries homólogas de homohopanos e homomoretanos. Para confirmar esta ocorrência, os RICs: m/z 205, 219, 233, 247, 251 e 265 (figura 21), correspondentes ao fragmento DE desses homólogos foram analisados. A partir destas análises e tendo como base os comentários na seção III.1.1.6., as informações do SEGEQ/CENPES e a comparação dos dados espectrais com dados da literatura, os picos assinalados nestes RICs são atribuídos aos correspondentes compostos listados na tabela 6, onde tem-se as séries homólogas, variando de C₃₁ a C₃₅, dos pares de epimeros 22R e 22S de hopanos e moretanos.

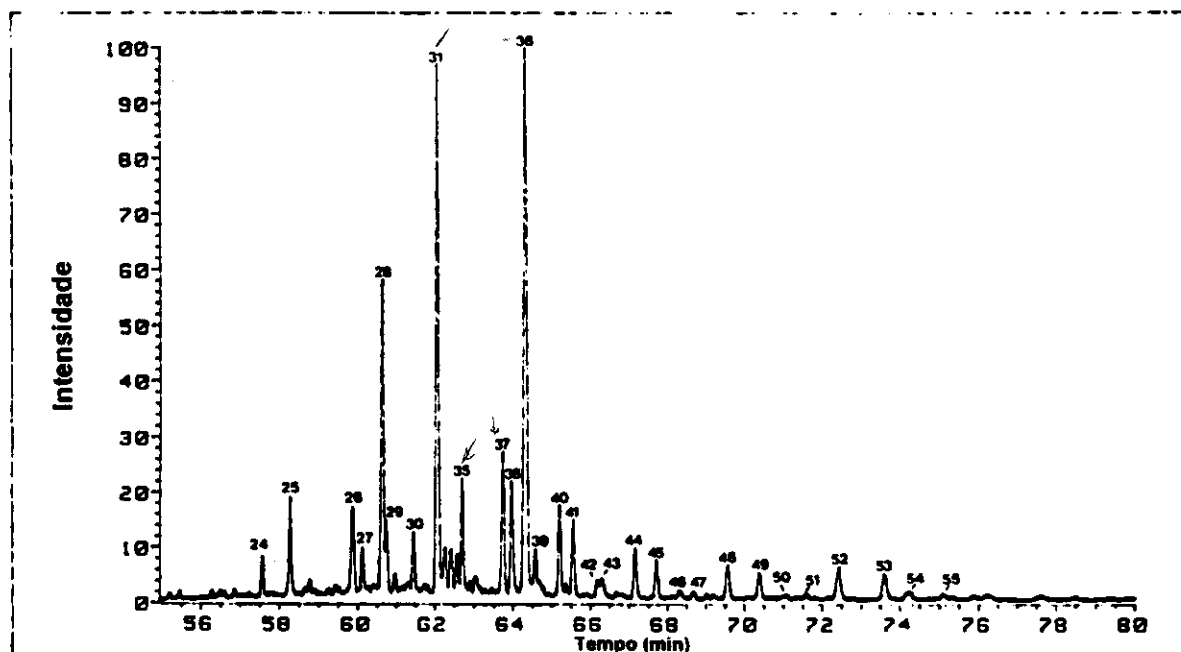


Figura 20: RIC 191 (terpanos pentacíclicos) da fração HAL do óleo A

Tabela 5: Terpanos pentacíclicos detectados através do RIC m/z 191 da fração HAL (figura 20)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
24	C ₂₇ -18 α -22,29,30-trisnorhopano (Ts)	177	355	370
25	C ₂₇ -17 α -22,29,30-trisnorhopano (Tm)	177	355	370
26	C ₂₈ -17 α ,18 α ,21 β -28,30-bisnorhopano	191	369	384
27	C ₂₉ -17 α -25-norhopano	177	383	398
28	C ₂₉ - $\alpha\beta$ -30-norhopano	191	383	398
29	C ₂₉ - $\beta\alpha$ -30-normoretano	191	383	398
30	C ₂₉ - $\beta\alpha$ -normoretano	191	383	398
31	C ₃₀ - $\alpha\beta$ -hopano	191	397	412
32	C ₂₉ -hopanóide (norgamacerano ?)	191	383	398
33	C ₃₀ -hopanóide	191	397	412
34	C ₃₀ -hopanóide	191	397	412
35	C ₃₀ - $\beta\alpha$ -moretano	191	397	412
36	C ₃₀ -Gamacerano	191	397	412
37	C ₃₁ - $\alpha\beta$ -homohopano (22S)	191	411	426
38	C ₃₁ - $\alpha\beta$ -homohopano (22R)	191	411	426
39	C ₃₁ - $\alpha\beta$ -homomoretano	205	411	426
40	C ₃₂ - $\alpha\beta$ -bishomohopano (22S)	191	425	440
41	C ₃₂ - $\alpha\beta$ -bishomohopano (22R)	191	425	440
42	C ₃₂ - $\beta\alpha$ -bishomomoretano (22S)	219	425	440
43	C ₃₂ - $\beta\alpha$ -bishomomoretano (22R)	219	425	440
44	C ₃₃ - $\alpha\beta$ -trishomohopano (22S)	191	439	454
45	C ₃₃ - $\alpha\beta$ -trishomohopano (22R)	191	439	454
46	C ₃₃ - $\beta\alpha$ -trishomomoretano(22S)	233	439	454
47	C ₃₃ - $\beta\alpha$ -trishomomoretano(22R)	233	439	454
48	C ₃₄ - $\alpha\beta$ -tetrakishomohopano (22S)	191	453	468
49	C ₃₄ - $\alpha\beta$ -tetrakishomohopano(22R)	191	453	468
50	C ₃₄ - $\beta\alpha$ -tetrakishomomoretano (22S)	247	453	468
51	C ₃₄ - $\beta\alpha$ -tetrakishomomoretano (22R)	247	453	468
52	C ₃₅ - $\alpha\beta$ -pentakishomohopano (22S)	191	467	482
53	C ₃₅ - $\alpha\beta$ -pentakishomohopano (22R)	191	467	482
54	C ₃₅ - $\beta\alpha$ -pentakishomomoretano (22S)	261	467	482
55	C ₃₅ - $\beta\alpha$ -pentakishomomoretano (22R)	261	467	482

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M⁺ = íon molecular

(4) $\alpha\beta$ = 17 α (H),21 β (H) e $\beta\alpha$ = 17 β (H),21 α (H)

- (5) Os compostos 37 a 55 (homohopanos e homomoretanos) foram confirmados através dos RICs m/z 205, 219, 233, 247, 261 e 275, da fração HAL (figura 21)
- (6) Nas séries de homohopanos e homomoretanos as homologações se dão, sequencialmente, nos carbonos 30, 31, 32, 33, e 34

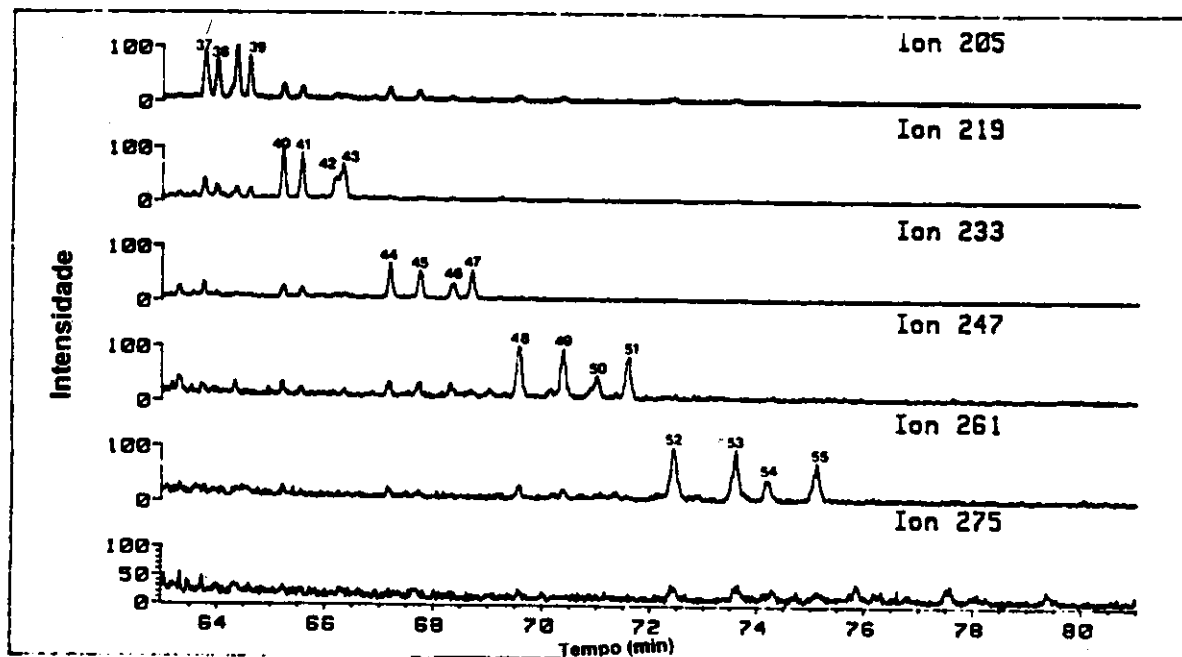


Figura 21: RICs m/z 205, 219, 233, 247, 261 e 275, da fração neutra do óleo A

Os índices calculados a partir das abundâncias relativas de compostos detectados na fração neutra, através do RIC m/z 191 (mostrados na tabela 6), e que são usualmente empregados como parâmetros indicativos de estágio maturação apresentaram valores muito próximos entre si, evidenciando mais uma vez a similaridade destes óleos, e nos indicam que os óleos estudados são pouco evoluídos termicamente.

Tabela 6 : Parâmetros de maturação calculados a partir do RIC m/z 191 para as amostras A, B, C e D

Parâmetros	Amostras			
	A	B	C	D
Razão $T_s / (T_s + T_m)$	0,30	0,32	0,31	0,30
Razão $\beta\alpha / (\beta\alpha + \alpha\beta)$ para C_{30} -hopano	0,16	0,12	0,15	0,14
Razão $S / (S + R)$ para C_{32} $\alpha\beta$ -homohopano	0,55	0,56	0,56	0,56

- (1) R e S se referem a configuração do carbono 22 do homohopano
- (2) $\beta\alpha$ e $\alpha\beta$ se referem às configurações dos carbonos 17 e 21 do hopano
- (3) Índices calculados a partir de dados do SEGEQ/CENPES/PETROBRAS (Figura 9)

A distribuição relativa de homohopanos (C_{31} a C_{35}), mostrada na figura 22, apresenta um perfil característico de óleos gerados a partir de sedimentos oriundos de ambientes anóxicos (Peters e Moldowan, 1993), onde se observa um decréscimo das abundâncias de C_{31} a C_{34} seguido de um enriquecimento de C_{35} .

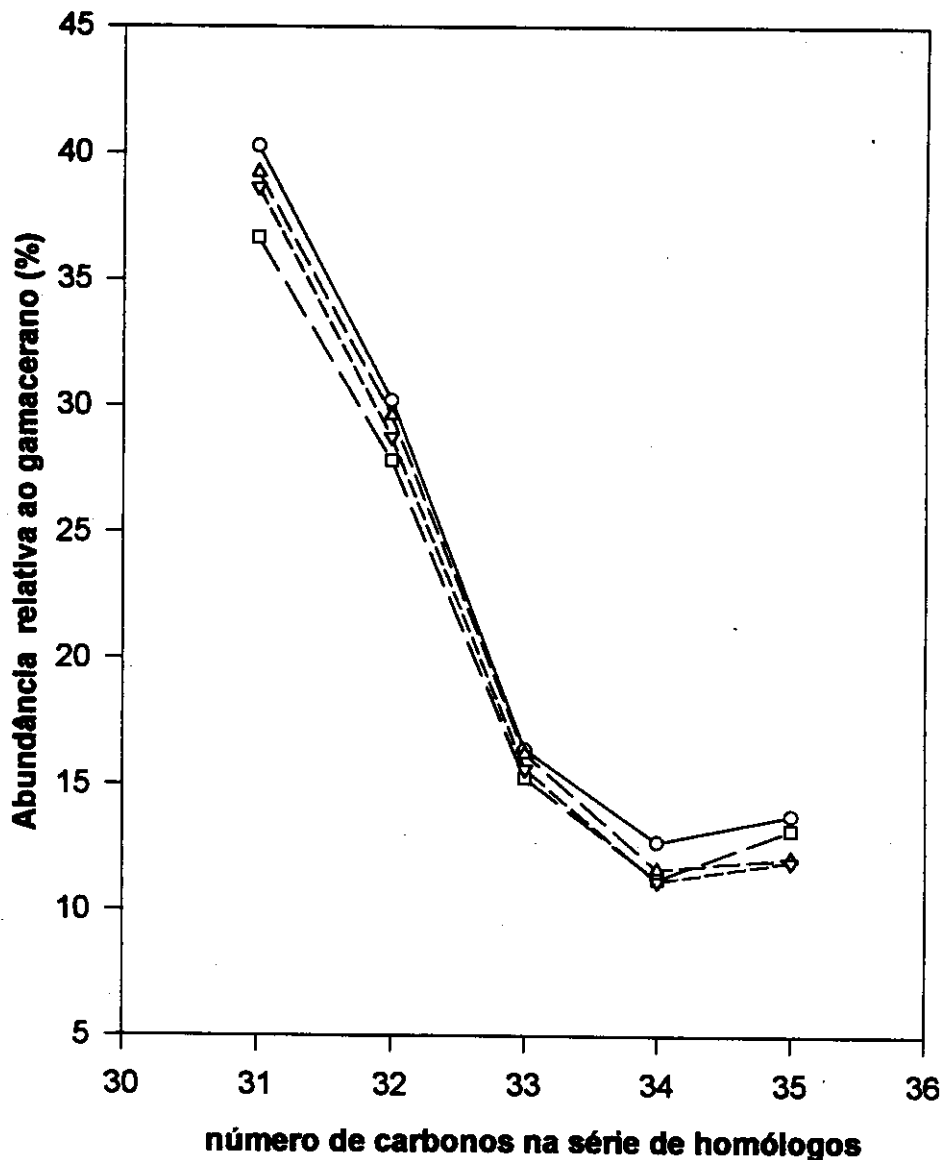


Figura 22: abundâncias relativas de homohopanos (22R+22S)

Na figura 23, mostrada a seguir, são apresentados os espectros de massas do C_{31} -homohopano e do C_{31} -homomoretano, onde pode-se observar a inversão nas abundâncias relativas dos íons correspondentes aos fragmentos AB e DE, conforme discutido na seção III.1.6 (pag. 15).

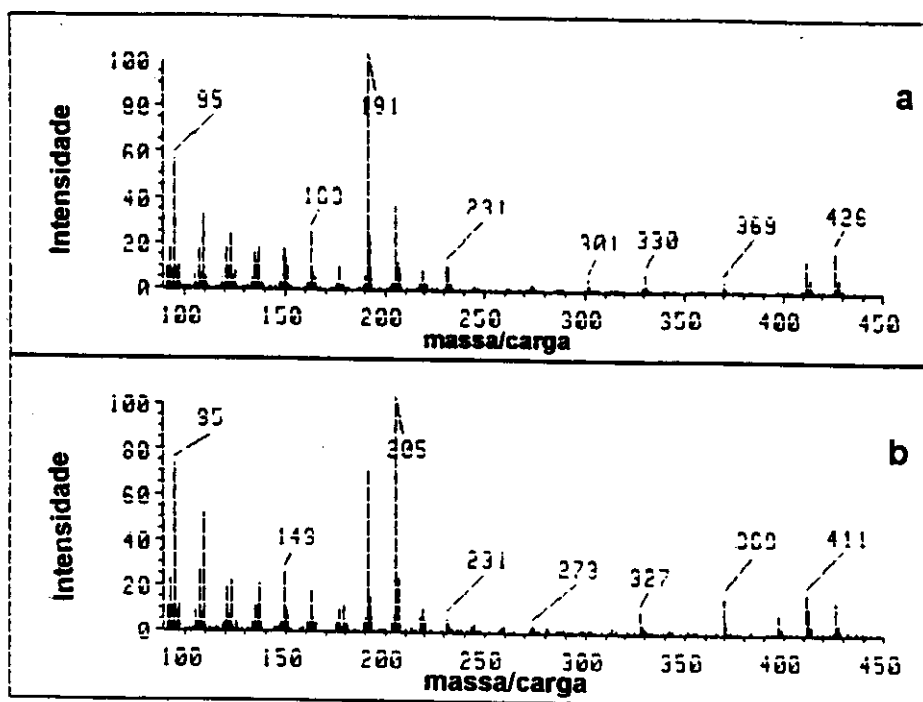


Figura 23: Espectro de massas de (a) C₃₁-homohopano (22S) e (b) C₃₁-homomoretano, correspondentes aos picos 37 e 39 da figura 20.

III.2.4. Esteranos e Diasteranos.

Na análise do RIC m/z 217 também foram reproduzidos os resultados obtidos no CENPES (figura 10), detectando-se os mesmos esteranos normais e diasteranos listados na tabela 7, cujos picos estão assinalados na figura 24. Dentre os esteranos normais, foram encontrados compostos com as diferentes estereoquímicas: 5 α (H),14 α (H),17 α (H),20R (" $\alpha\alpha\alpha$ R"); 5 α (H),14 α (H),17 α (H),20S (" $\alpha\alpha\alpha$ S"); 5 α (H),14 β (H),17 β (H),20R (" $\alpha\beta\beta$ R") e 5 α (H),14 β (H),17 β (H),20S (" $\alpha\beta\beta$ S"). Em todas as amostras analisadas o esterano mais abundante foi sempre o colestano (C₂₇) com configuração " $\alpha\alpha\alpha$ R", seguido do 24-etil-colestano (C₂₉) de mesma configuração. Segundo Huang e Meischein (1978), a maior abundância de esteranos C₂₇ e C₂₉ em comparação com C₂₈ é indicativo da contribuição de plantas superiores na formação do sedimento.

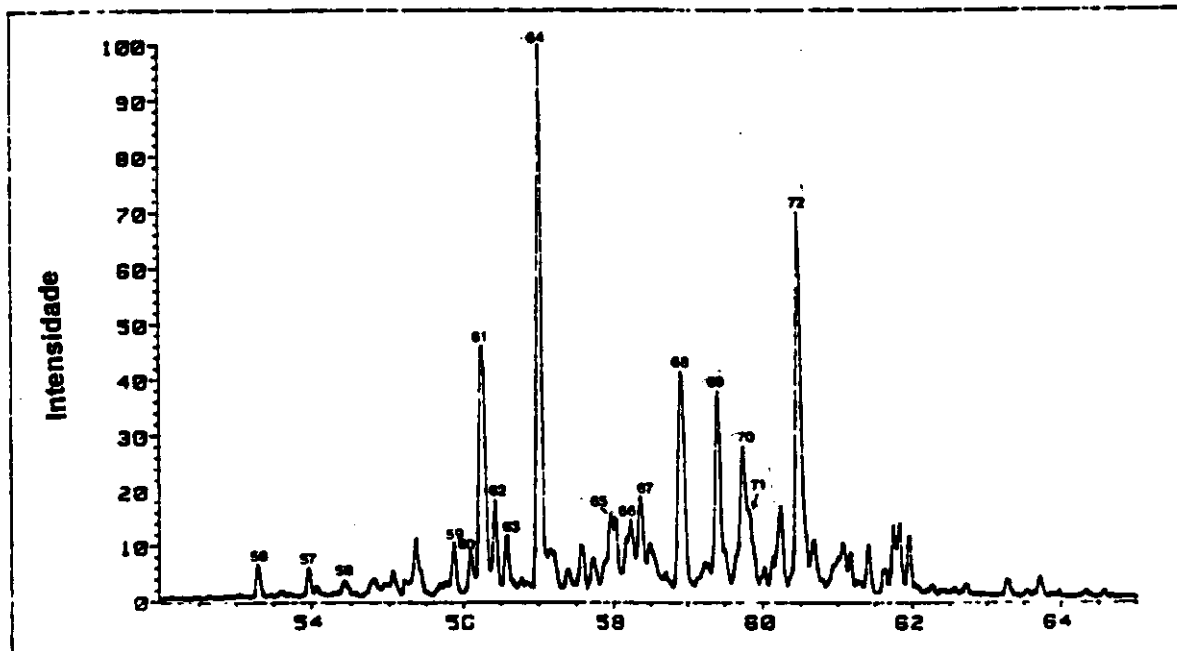


Figura 24: RIC m/z 217 da fração neutra do óleo A

Tabela 7: Esteranos detectados através do RIC m/z 217 da fração HAL (figura 24)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
56	C27-β α -diacolestano (20S)	217	357	372
57	C27-β α -diacolestano (20R)	217	357	372
58	C27-αβ-diacolestano (20S)	217	357	372
59	C27-αβ-colestano	217	357	372
60	C28-αβ-metildiacolestano (20R)	217	371	386
61	C27-ααα-colestano (20S)	217	357	372
62	C27-αββ-colestano (20R)	217	357	372
63	C27-αββ-colestano (20S)	217	357	372
64	C27-ααα-colestano (20R)	217	357	372
65	C28-ααα-24-metilcolestano (20S)	217	371	386
66	C28-αββ-24-metilcolestano (20R)	217	371	386
67	C28-αββ-24-metilcolestano (20S)	217	371	386
68	C28-ααα-24-metilcolestano (20R)	217	371	386
69	C29-ααα-24-etilcolestano (20S)	217	385	400
70	C29-αββ-24-etilcolestano (20R)	217	385	400
71	C29-αββ-24-etilcolestano (20S)	217	385	400
72	C29-ααα-24-etilcolestano (20R)	217	385	400

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M^+ = ion molecular

(4) As configurações indicadas em cada composto da tabela como α ou β , referem-se aos hidrogênios ligados, respectivamente, aos carbonos 13 e 17 nos diasteranos e 5, 14 e 17 nos esteranos normais.

Em seguida, na figura 25, são apresentados os espectros de massas do colestano (C_{27}), do 24-metilcolestano ou ergostano (C_{28}) e do 24-etilcolestano ou estigmastano (C_{29})

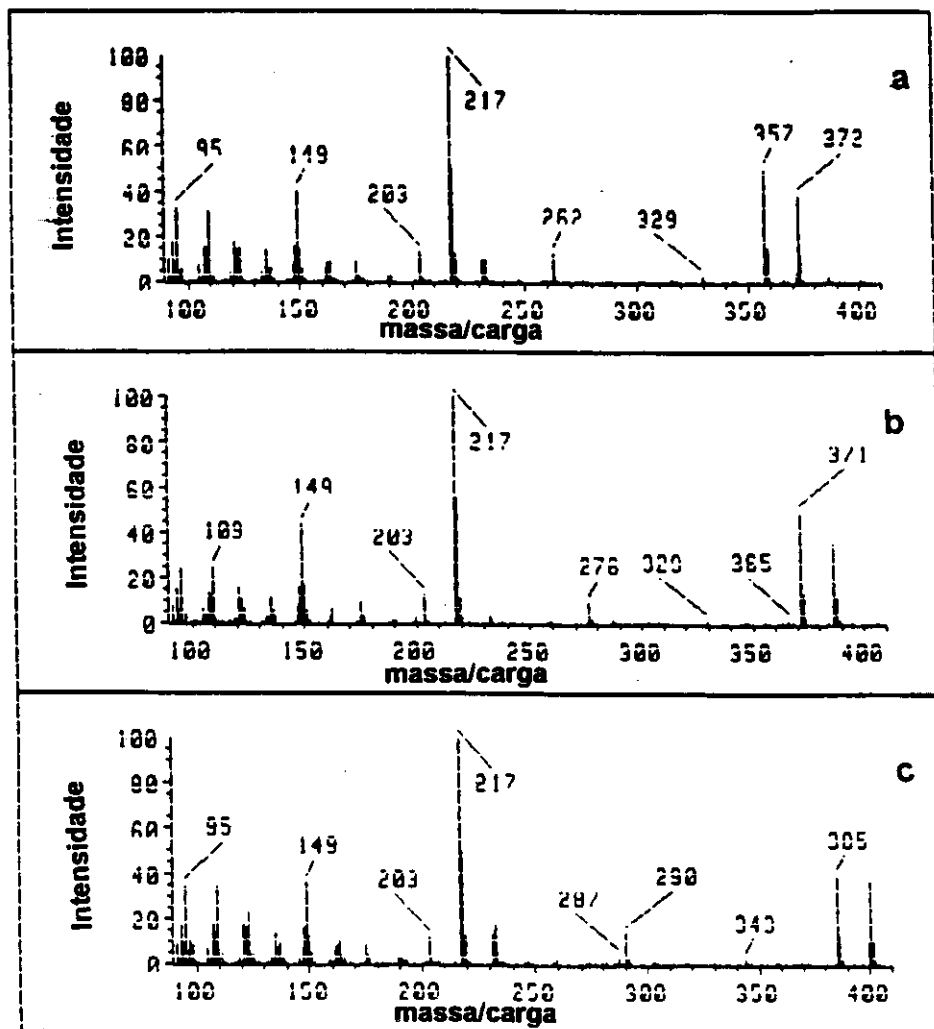


Figura 25: Espectros de massas dos $5\alpha(H),14\alpha(H),17\alpha(H),(20R)$ -colestano (a) , -24-metilcolestano (b) e -24-etilcolestano (c), picos 64, 68 e 72, da figura 24

É importante observar nesses espectros o íon correspondente à perda do anel A que, conforme descrito na seção III.1.1.7. (pag.19) apresenta valores de m/z iguais a 262, 276 e 290, respectivamente, para o colestano, ergostano e estigmastano.

Os índices calculados a partir das abundâncias relativas de compostos detectados na fração neutra, através do RIC m/z 217 (figura 10; mostrados na tabela 8, a seguir), e que são usualmente empregados como parâmetros indicativos de estágio de maturação também apresentaram valores muito próximos entre si, como no caso daqueles calculados no RIC m/z 191, novamente evidenciando a similaridade destes óleos, e também nos mostram que os óleos que estudamos são pouco evoluídos termicamente.

Tabela 8 : Parâmetros de maturação calculados a partir do RIC m/z 217, para os óleos A, B, C e D

Parâmetros	Amostras			
	A	B	C	D
Razão S / (S+R) para $C_{29} \alpha\alpha\alpha$	0,38	0,36	0,38	0,40
Razão $\alpha\beta\beta$ / ($\alpha\beta\beta + \alpha\alpha\alpha$) para C_{29} (R+S)	0,28	0,28	0,29	0,30

(1) R e S se referem a configuração do carbono 20 do esterano C_{29}

(2) $\alpha\beta\beta$ e $\alpha\alpha\alpha$ se referem às configurações dos carbonos 5, 14 e 17 do esterano C_{29}

(3) Índices calculados a partir de dados do SEGEQ/CENPES/PETROBRAS (Figura 10)

III.2.5. 3-Alquil esteranos:

A detecção de 3-alkil esteranos na fração de hidrocarbonetos derivados de ácido, de todos os óleos, nos animou a fazer uma reanálise das frações neutras, em busca destes compostos. Com esta finalidade foi feita uma reanálise das amostras e foram estudados os RICs correspondentes aos íons responsáveis pelo pico-base nos espectros dos compostos desta série, onde o grupo alquil varia de metil a hexil. Estes RICs são os de m/z 231, 245, 259, 273, 287 e 301, respectivamente.

Foi detectada uma série desses compostos, em menor abundância que na fração de hidrocarbonetos derivados dos ácidos, porém, com destaque para ocorrência de um maior número de isômeros de A-metil-esteranos. Na figura 26, são apresentados os RICs m/z 231, 245, 259, 273, 287 e 301, onde estão assinalados os picos referentes a 25 (vinte e cinco) constituintes desta série, cujas identificações estão propostas na tabela 9.

Essas propostas foram feitas com base nas análises dos respectivos espectros de massas, levando-se em conta as abundâncias dos íons considerados "chaves" para atribuição da estereoquímica dos esteranos não

alquilados, conforme comentários nas páginas 22 e 23 e com base em dados da literatura (Philp et al., 1981; Scofield, 1990; Peters e Moldowan, 1993).

As atribuições aos picos 73, 76, 86, 87, 92, e 95 foram confirmadas pela co-injeção de padrões sintéticos por nós preparados.

A ocorrência desta série de compostos em amostras geológicas tem registro recente (Summons e Capon, 1988 e 1991; Dahl et al., 1992) e sua origem ainda não está bem esclarecida, podendo ser, até então, considerados como fósseis "órfãos" (Ourisson e Albrecht, 1992).

Na seção IV.2.7. (pag. 71) apresenta-se uma discussão mais detalhada sobre a ocorrência, a detecção e o significado da presença desses compostos,

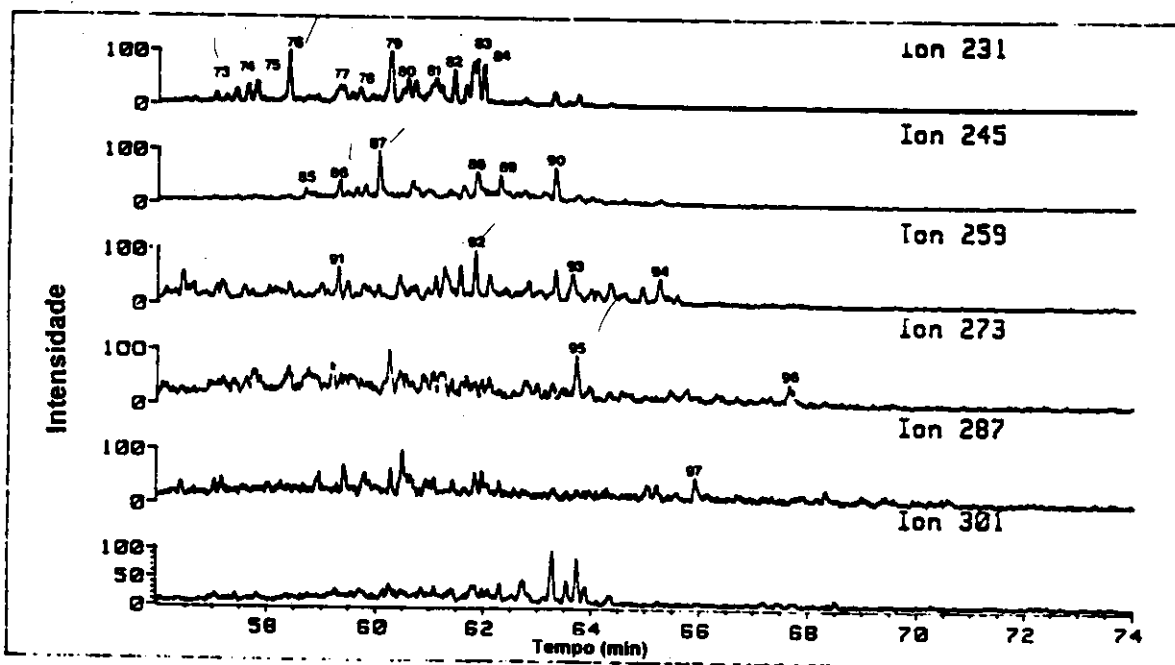


Figura 26: RICs m/z 231, 245, 259, 273, 287 e 301, da fração neutra do óleo

A

**IV. ESTUDO DOS
BIOMARCADORES ÁCIDOS**

Tabela 9: 3-Alquil-esteranos detectados através dos RICs m/z 231, 245, 259, 273 e 287, da fração HAL (figura 26)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
73	C ₂₈ -β $\alpha\alpha$ -3-metilcolestano (20R)	231	371	386
74	C ₂₈ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metilcolestano	231	371	386
75	C ₂₈ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metilcolestano	231	371	386
76	C ₂₈ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metilcolestano (20R)	231	371	386
77	C ₂₉ - $\alpha\alpha\alpha$ -3,24-dimetilcolestano	231	385	400
78	C ₂₉ - $\alpha\alpha\alpha$ -3,24-dimetilcolestano	231	385	400
79	C ₂₉ - $\alpha\alpha\alpha$ -3,24-dimetilcolestano	231	385	400
80	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metil-24-etilcolestano	231	399	414
81	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metil-24-etilcolestano	231	399	414
82	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metil-24-etilcolestano	231	399	414
83	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metil-24-etilcolestano	231	399	414
84	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-metil-24-etilcolestano	231	399	414
85	C ₂₉ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-etilcolestano	245	385	400
86	C ₂₉ -β $\alpha\alpha$ -3-etilcolestano (20R)	245	385	400
87	C ₂₉ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-etilcolestano (20R)	245	385	400
88	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-etil-24-metilcolestano	245	399	414
89	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-etil-24-metilcolestano	245	399	414
90	C ₃₁ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-etil-24-etilcolestano	245	413	428
91	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-propilcolestano	259	399	414
92	C ₃₀ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-propilcolestano (20R)	259	399	414
93	C ₃₁ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-propil-24-metilcolestano	259	413	428
94	C ₃₂ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-propil-24-etilcolestano	259	427	442
95	C ₃₁ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-butilcolestano (20R)	273	413	428
96	C ₃₂ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-butil-24-metilcolestano	273	427	442
97	C ₃₃ - $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentil-24-metilcolestano	287	441	456

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M⁺ = íon molecular

(4) As tres configurações indicadas em cada composto acima como α ou β , referem-se aos hidrogênios ligados, respectivamente, aos carbonos 5, 14 e 17.

III. ESTUDO DE BIOMARCADORES NEUTROS

III.3. CONCLUSÕES

A reanálise das frações neutras das amostras dos quatro óleos estudados, foi de fundamental importância para nosso trabalho uma vez que forneceu relevantes informações complementares àquelas resultantes das análises realizadas no CENPES.

O estudo destas frações além de evidenciar a grande similaridade destes óleos, mostrou a ausência de n-alcenos e alcanos ramificados e a ocorrência de terpanos bicíclicos, tricíclicos, tetracíclicos e pentacíclicos, bem como de esteranos e alquil esteranos.

Com relação a origem destas amostras, foi confirmado, pela presença de β -carotano e pelo alto índice de gamacerano - o composto mais abundante no RIC m/z 191 - que se tratam de óleos oriundos de ambientes hipersalinos o que também é reforçado pela razão das abundâncias dos homohopanos C_{35}/C_{34} , maior que 1, indicativa de ambiente anóxico hipersalino.

As relações $Ts/(Ts+Tm)$; $\beta\alpha/(\beta\alpha+\alpha\beta)$ C_{30} -hopanos; $S/(S+R)$ C_{31} -homohopanos; $S/(S+R)$ C_{29} - $\alpha\alpha\alpha$ -esteranos e $\alpha\beta\beta/(\alpha\beta\beta+\alpha\alpha\alpha)$ C_{29} -(S+R)-esteranos, com valores em torno de, respectivamente, 0,31; 0,15; 0,56; 0,38 e 0,29, indicam que estes óleos são pouco evoluídos termicamente. Segundo Santos Neto e colaboradores, os óleos da bacia Potiguar, gerados pela formação Alagamar, apresentam variados graus de evolução térmica, com essa evolução diminuindo gradativamente, a medida que estes óleos se deslocam para noroeste da linha de Charreira de Areia Branca e para sudeste da linha de Estreito-Guamaré. Como o campo de Fazenda Belém está situado no extremo oeste da bacia Potiguar os dados aqui apresentados estão em concordância com esta afirmação.

A densidade API entre 14 e 15; o índice de acidez, a ausência de n-alcenos e alcanos ramificados e a ocorrência de 25-norhopano são indicativos de uma amostra de óleo em adiantado estágio de biodegradação.

Por sua vez, a detecção de diterpanos tetracíclicos sugere uma contribuição de vegetais superiores na matéria orgânica depositada que deu origem aos óleos estudados.

No entanto, o dado mais importante foi a identificação da série de 3-alquil esteranos que, juntamente com a identificação dos correspondentes ácidos carboxílicos se constitui na principal contribuição deste trabalho e que será comentado com mais detalhe na conclusão geral.

IV. ESTUDO DE CONSTITUINTES ÁCIDOS

IV.1. INTRODUÇÃO

IV.1.1. Comentários Gerais

Os ácidos carboxílicos são os principais constituintes dos lipídios em muitos organismos vivos e, por conseqüência, encontram-se também vastamente distribuídos em sedimentos e petróleos (Behar e Albrecht, 1984). Mesmo assim, esses compostos não são rotineiramente analisados, visando sua utilização na exploração de petróleo, e o volume de trabalhos encontrados na literatura é muito menor que aqueles que tratam de biomarcadores neutros.

Entretanto, é importante destacar que os estudos realizados com biomarcadores ácidos (Kvenvolden, 1987; Seifert e Howells, 1969; Jaffé e Gallardo, 1993) revelam o grande potencial que esses compostos apresentam em fornecer informações complementares, no estudo da geoquímica orgânica de sedimentos e óleos, que certamente permitirão uma classificação mais refinada dessas amostras. Seifert (1975) publicou uma excelente revisão sobre o assunto.

Os biomarcadores ácidos podem ser distribuídos em diferentes grupos de compostos de acordo com seus esqueletos carbônicos. A seguir alguns desses grupos de compostos serão comentados.

IV.1.2. Ácidos Graxos

São os constituintes ácidos mais intensamente estudados em petróleo e sedimentos. Eles são também os principais componentes ácidos na maioria dos organismos e persistem por um longo tempo geológico. Esses compostos têm sido encontrados em uma grande variedade de petróleo e em sedimentos datados desde o pré-cambriano até a idade recente (Kvenvolden, 1987; Burlingame e Simoneit, 1968).

Na natureza predominam os ácidos graxos com número par de átomos de carbonos, na faixa de C₄ a C₂₆. Essa predominância também é observada em sedimentos recentes, o que pode ser quantificado pelo índice de preferência de carbono (CPI, *carbon preference index*) que, nessas amostras, apresenta altos valores (Douglas et al., 1966; Cooper e Bray, 1963), na faixa de 2 a 5. No entanto, com a maturação do sedimento, a predominância de compostos com número par de átomos de carbono geralmente diminui e o CPI se torna menor, em torno de 1.

O CPI é calculado normalmente em relação às n-parafinas e reflete a abundância relativa dos n-alcanos com número ímpar de carbonos sobre os n-alcanos com número par de carbonos (Peters e Moldowan, 1993). Este índice pode ser calculado em relação aos ácidos graxos, nesse caso, empregando-se a fórmula mostrada abaixo que, ao contrário do índice calculado para n-alcanos, traduz a abundância dos compostos com número par de carbonos sobre aqueles com número ímpar (Seifert, 1975).

$$\text{CPI}_{\text{ácidos graxos}} = \frac{1}{2} \left(\frac{\sum[\text{C}_{16} \text{ a } \text{C}_{30}]}{\sum[\text{C}_{15} \text{ a } \text{C}_{29}]} + \frac{\sum[\text{C}_{16} \text{ a } \text{C}_{30}]}{\sum[\text{C}_{17} \text{ a } \text{C}_{31}]} \right)$$

onde:

$\sum[\text{C}_{16} \text{ a } \text{C}_{30}]$ = somatório das abundâncias dos ácidos graxos com número par de carbonos, de C₁₆ a C₃₀;

$\sum[\text{C}_{15} \text{ a } \text{C}_{29}]$ = somatório das abundâncias dos ácidos graxos com número ímpar de carbonos, de C₁₅ a C₂₉;

$\sum[\text{C}_{17} \text{ a } \text{C}_{31}]$ = somatório das abundâncias dos ácidos graxos com número ímpar de carbonos, de C₁₇ a C₃₁.

Como os n-ácidos mais abundantes na natureza são o palmítico (C₁₆), 31, e o esteárico (C₁₈), 32, que são também os mais abundantes em óleos e sedimentos, o CPI para ácidos graxos é, muitas vezes, calculado a partir de uma expressão simplificada que apresentamos a seguir:

$$\text{CPI}_{\text{ácidos graxos}} = \frac{(\text{C}_{16} + \text{C}_{18})}{2\text{C}_{17}}$$

Onde:

C₁₆, C₁₇ e C₁₈ são as abundâncias dos respectivos ácidos graxos.



ÁCIDO PALMÍTICO (C₁₆)

31



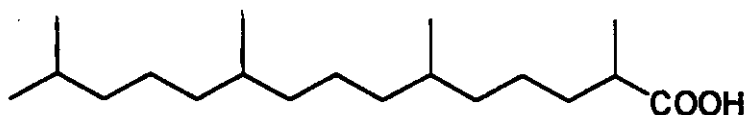
ÁCIDO ESTEÁRICO (C₁₈)

32

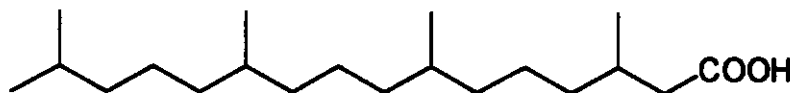
Há controvérsias quanto a relação genética existente entre n-ácidos e n-parafinas encontrados em amostras geológicas. Cooper e Bray, 1963 foram os primeiros a postularem esta relação que foi demonstrada experimentalmente por Welt (1963): as abundâncias relativas de n-ácidos e n-parafinas são quase idênticas quando são comparados o n-ácido e a respectiva n-parafina com um átomo de carbono a menos. Isto sugere que o processo global responsável pela transformação de n-ácido a n-parafina, equivale a uma simples descarboxilação. Atualmente é aceito que os n-ácidos são, pelo menos em parte, os precursores dos n-alcanos formados geoquimicamente (Behar e Albrecht, 1984).

IV.1.3. Ácidos isoprenóides acíclicos:

A primeira descoberta desta classe de compostos foi feita por Cason e colaboradores (1965a), tendo como material de partida uma amostra de ácido naftênico comercial processado em refinaria. Eles confirmaram por síntese de padrões a presença dos seguintes ácidos isoprenóides: 2,6,10-trimetilundecanóico, 3,7,11-trimetildodecanóico, 2,6,10,14-tetrametilpentadecanóico (ácido pristânico), 33 e 3,7,11,15-tetrametilexadecanóico (ácido fitânico), 34. Após a descoberta de Cason e colaboradores, vários pesquisadores detectaram ácidos isoprenóicos em sedimentos (Englinton et al., 1966; Haug et al., 1967; Blumer e Cooper, 1967).



33 Ácido Pristânico



34 Ácido Fitanóico

Os ácidos fitânico e pristânico são os compostos mais estudados dentro desta classe. Eles estão presentes em organismos vivos, podendo ser preservados como tal nos sedimentos (Ackman e Hansen, 1967) e também podem ser formados a partir do fitol, oriundo da cadeia lateral da clorofila, que é abundante em sedimentos. Bactérias halofílicas também têm sido citadas como outra possível fonte destes compostos (Englinton et al., 1966).

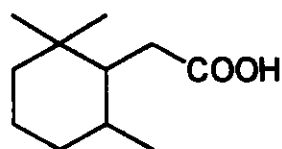
Com relação a uma possível relação genética entre hidrocarbonetos isoprenóides e os respectivos ácidos, foi observado, por exemplo, que as abundâncias de hidrocarbonetos C₁₉ e C₂₀ são paralelas às abundâncias

dos ácidos correspondentes (Douglas et al., 1966), o que descarta uma relação decorrente da simples descarboxilação do ácido para gerar o hidrocarboneto com um átomo de carbono a menos, como foi demonstrado para n-ácidos/n-parafinas. Esta observação é reforçada pela abundância do ácido isoprenóide C₁₅, na ausência do hidrocarboneto C₁₄.

A questão da origem desses compostos foi analisada por McLean e colaboradores (1968) pela determinação da configuração relativa e absoluta de seus derivados ésteres metílicos. O resultado mostrou que a composição diastereomérica é compatível com a hipótese de derivação a partir da clorofila.

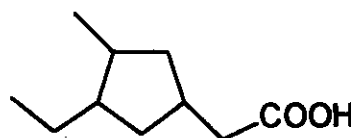
IV.1.4. Ácidos mono- e bicíclicos:

A designação "ácidos naftênicos" para os compostos encontrados na fração ácida do petróleo, advém do reconhecimento inicial da predominância de ácidos monocíclicos (com anéis de cinco e seis membros) nesta fração, fato há muito relatado na literatura (Cason e Liauw, 1965; Murphy et al., 1969; Li et al., 1990). Eles ocorrem com variados padrões de distribuição de substituintes no anel e como exemplos podemos citar o ácido 2,2,6-trimetilciclohexilacético, 3, que pode ser considerado um ácido isoprenóico e o ácido 3-etil-4-pentilciclohexilacético, 4, que não é isoprenóico (Cason e Khodar, 1966). Estes compostos tiveram suas estruturas confirmadas pelo uso de padrões sintéticos.



35

2,2,6-trimetilciclohexilacético



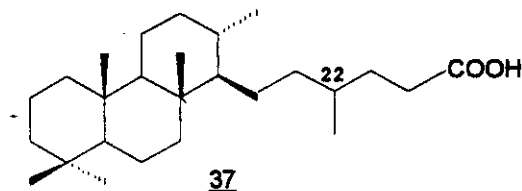
36

Ácido 3-etil-4-pentilciclohexilacético

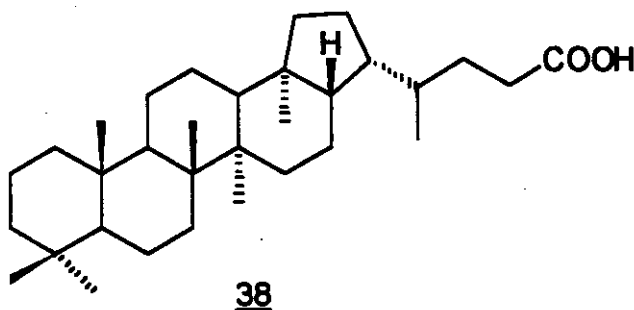
Os ácidos bicíclicos, por sua vez, já não são tão comuns, havendo poucos relatos sobre eles na literatura (Seifert e Howells, 1969; Cyr e Strausz, 1984; Li et al., 1990).

IV.1.5. Ácidos terpanóicos tri- e pentacíclicos:

Estes compostos são bem-conhecidos constituintes da fração ácida de óleos (Seifert, 1975). Os mais abundantes são aqueles do tipo queilantano, 37, que ocorrem como uma série homóloga, variando de C₂₀ a C₂₆ (Cyr e Strausz, 1984). De C₂₄ a C₂₆ eles ocorrem como um par de epímeros em C-22, em face do surgimento de um novo centro quiral nesta posição. De todos eles, C₂₁ e C₂₄ são os compostos que, em geral, estão presentes em maior escala.

Tricíclico tipo queilantano, C₂₆

Há, na literatura, vários registros da ocorrência de ácidos hopanóicos em amostras geológicas. O ácido hopilacético, 38, por exemplo, foi detectado em grande quantidade (50 ppm da rocha seca) em amostra datada do eoceno (Seifert, 1975). A presença desse composto com a configuração biológica ($17\beta(\text{H})21\beta(\text{H})$), que corresponde à configuração termodinamicamente menos estável, ocorrendo apenas como um dos possíveis epímeros em C-22 e acompanhado da presença do hidrocarboneto correspondente com um carbono a menos, o $17\beta(\text{H})21\beta(\text{H})$ -homohopano, é um forte indicativo de que o ácido se origina diretamente do organismo vivo e reforça a hipótese, comentada na seção IV.1.2., segundo a qual, o hidrocarboneto deriva do ácido graxo por simples descarboxilação deste.



Ácido hopilacético

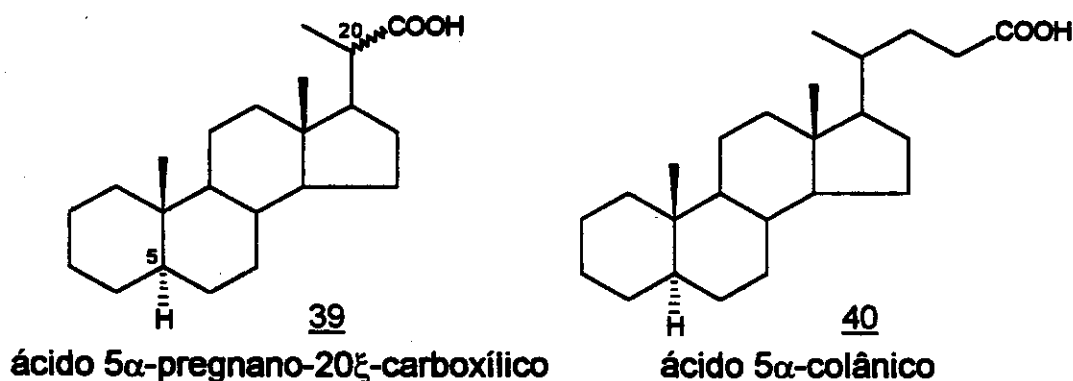
Outros ácidos hopanóicos, entre os quais aqueles com a carboxila diretamente ligada a C-21 e os homohopanóicos têm sido detectados em sedimentos (Schmitter et al., 1978; Bakarati e Yen, 1990). Em geral, a estereoquímica predominante em amostras recentes é a biológica ($17\beta(\text{H}),21\beta(\text{H})$) que, com a maturação, isomeriza para $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ e $17\beta(\text{H}),21\beta(\text{H})$.

Schmitter e col (1978) afirmam o não conhecimento, até então, da ocorrência de ácidos hopanóicos em óleos crus. No entanto, Jaffé e Gallardo (1993), relatam em publicação recente a detecção desses compostos em amostras de petróleo e sugerem a aplicação da razão entre as abundâncias dos ácidos tricíclicos e pentacíclicos (hopanóicos) como indicador de biodegradação de óleos. Devido a maior resistência dos ácidos

tríclicos em relação aos hopanóicos, esta razão cresce com com a biodegradação.

IV.1.6. Ácidos esteranóicos:

Os ácidos carboxílicos esteranóicos são os mais abundantes dentre os constituintes ácidos de petróleos da Califórnia, chegando a corresponder a 330 ppm do óleo cru (Seifert et al., 1972). Os primeiros desta classe a serem detectados em petróleo foram os ácidos 5α -pregnano-20 ξ -carboxílico, epímeros em C-20, 39, identificados por Seifert e col. (1971). Outros compostos também foram identificados e entre eles podemos citar o ácido 5α -colânico, 40.



O primeiro relato da ocorrência de caboxialquilesteranos ocorreu em 1990 (Danny et al., 1990). Posteriormente, Schaffer e col. (1993) fizeram um relato da ocorrência de alguns ácidos 3-alkil-esteranóicos em rochas carbonáticas e sugerem que esses compostos podem ter micro-algas como principal fonte e assim, a presença deles pode significar mais um "input" destas algas do que característica de ambiente marinho evaporítico. Novamente Schaeffer e col.(1994) voltaram a relatar a ocorrência de 3-carboxi-esteranos em sedimentos de origem evaporítica e, propuseram que estes compostos se originavam de um precursor resultante da combinação, produzida por atividade microbiana, de Δ^2 -estereno com uma molécula de açúcar, o qual seria análogo ao hopanotetrol.

IV. ESTUDO DE CONSTITUINTES ÁCIDOS

IV. 2. DISCUSSÃO

IV.2.1. Considerações Gerais

A fração NAF, contendo os constituintes ácidos do óleo foi obtida segundo o fluxograma 2 (pag. 6). Os constituintes desta fração foram derivatizados a éster metílico (fração EMA) e em seguida a hidrocarboneto (fração HHA) e hidrocarboneto deuterado (fração HDA), segundo o fluxograma 3 (pag. 7). Esses constituintes ácidos foram então estudados na forma de seus derivados, através da análise por CG e CG-EM das frações HHA, HDA e EMA.

A análise por CG, teve como objetivo otimizar as condições experimentais para posteriormente serem utilizadas no sistema CG-EM.

O estudo dos constituintes ácidos de cada óleo, foi iniciado pela análise da fração HHA, onde, como primeiro passo, foi realizada uma "varredura" do TIC (figura 27) , visando a interpretação preliminar dos espectros de massas dos constituintes mais abundantes.

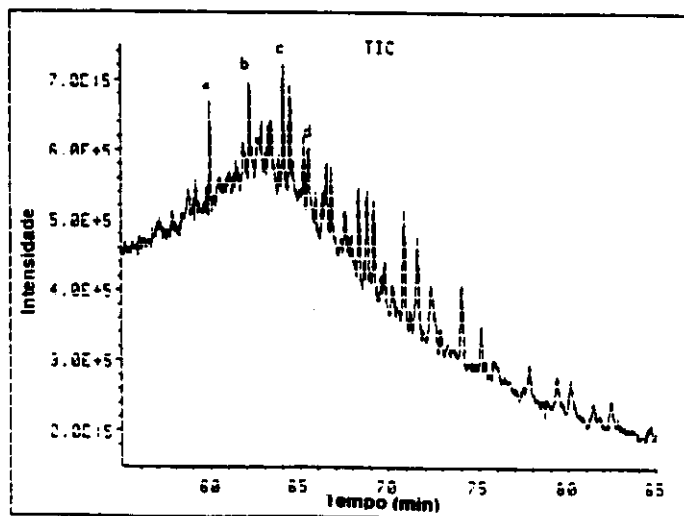


Figura 27: TIC da fração HHA da amostra A

Na seqüência os RICs correspondentes aos picos-bases desses compostos foram analisados e, logo após, os RICs apropriados para pesquisas dos derivados de ácidos correspondentes aos compostos já detectados na fração neutra: terpanos bicíclicos, tricíclicos, tetracíclicos e

pentacíclicos e esteranos. Por fim, pesquisamos a ocorrência de derivados dos ácidos lineares, através da análise do RIC m/z 74, na fração EMA, e dos ácidos isoprenóides. Dos compostos detectados na fração HHA, buscava-se a confirmação da ocorrência, através da análise dos RICs apropriados, nas frações HDA e EMA.

Assim, foi feita na fração HHA, uma análise dos mesmos RICs utilizados no estudo dos diversos constituintes da fração neutra, dedicando, no entanto, uma maior atenção aos RICs correspondentes aos alquil-esteranos, que foram os compostos que se mostraram em maior abundância no TIC da fração HHA, o que não ocorreu no TIC da fração neutra (fração HAL). Estes mesmos RICs foram analisados também nas frações HDA, contendo os derivados deuterados, e EMA, contendo os ésteres metílicos derivados.

Com o objetivo de localizar a posição original da carboxila no ácido, foram analisados ainda, nas frações HDA e EMA, os RICs correspondentes aos acréscimos de, respectivamente, uma e quarenta e quatro unidades de massas.

Os compostos cujas ocorrências serão discutidas a seguir, foram detectados na forma dos três derivados dos ácidos: hidrocarboneto (na fração HHA), hidrocarboneto deuterado (na fração HDA) e ésteres metílicos (na fração EMA).

IV.2.2. Ácidos graxos:

Nas frações neutras dos óleos estudados, não foi possível detectar a ocorrência de hidrocarbonetos lineares o que é justificado pelo estágio de biodegradação em que se encontram as amostras analisadas. No entanto, nas frações derivadas dos ácidos, detectou-se a ocorrência dos derivados lineares, na faixa de C_{12} a C_{29} , (picos 59 a 115, na figura 28) com predominância dos ácidos com número par de carbonos sobre aqueles de número ímpar e com uma maior abundância de C_{16} e C_{18} . O RIC m/z 74 da fração EMA, da amostra A, está mostrado na figura 28 e os picos assinalados correspondem aos compostos listados na tabela 10.

Mackenzie e col. (1981). afirmam que os ácidos graxos presentes em óleos podem ser: (i) ácidos originais da rocha geradora, (ii) ácidos resultantes da biodegradação do óleo e (iii) ácidos biossintetizados "de novo" por microorganismos; e que a ocorrência destes ácidos lineares saturados, com abundâncias relativamente altas de C_{16} e C_{18} , pode ser tomado como indicativo de atividade microbiana recente. Segundo Jaffé e Gallardo (1993) esses ácidos podem ainda ter sido incorporados durante o processo de migração do óleo. A maior concentração relativa dos ácidos C_{16} e C_{18} , é um indicativo que estes compostos podem ser produtos de síntese "de novo".

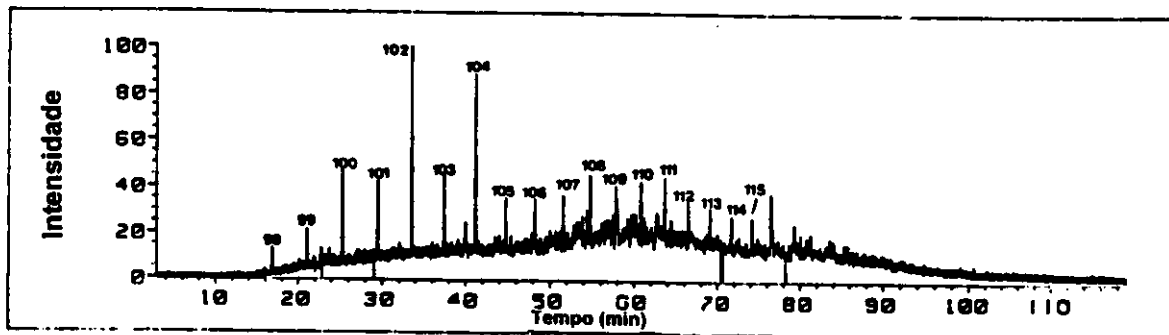


Figura 28: RIC m/z 74 da fração EMA da amostra A.

Tabela 10: Ácidos carboxílicos lineares, detectados como ésteres metílicos derivados, através do RIC m/z 74, da fração EMA (figura 26)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
98	Ácido dodecanóico (C ₁₂)		199	214
99	Ácido tridecanóico (C ₁₃)		213	228
100	Ácido tetradecanóico (C ₁₄)		227	242
101	Ácido pentadecanóico (C ₁₅)		241	256
102	Ácido hexadecanóico (C ₁₆)		255	270
103	Ácido heptadecanóico (C ₁₇)		269	284
104	Ácido octadecanóico (C ₁₈)		283	298
105	Ácido nonadecanóico (C ₁₉)		297	312
106	Ácido eicosanóico (C ₂₀)		311	326
107	Ácido heneicosanóico (C ₂₁)		325	340
108	Ácido docosanóico (C ₂₂)		339	354
109	Ácido tricosanóico (C ₂₃)		353	368
110	Ácido tetracosanóico (C ₂₄)		367	382
111	Ácido pentacosanóico (C ₂₅)		381	396
112	Ácido hexacosanóico (C ₂₆)		395	410
113	Ácido heptacosanóico (C ₂₇)		409	424
114	Ácido octacosanóico (C ₂₈)		423	438
115	Ácido nonacosanóico (C ₂₉)		437	452

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M⁺ = íon molecular

(4) Os números indicados nas colunas PB, M-15 e M⁺, correspondem aos valores de m/z destes íons, no éster derivado do respectivo ácido.

IV.2.3. Ácidos bicíclicos:

Na análise do RIC m/z 123 (figura 30) da fração HHA, foi detectada uma série de derivados bicíclicos, cujos picos estão assinalados com os números 116 a 121. Esses compostos apresentam como pico-base nos espectros de massas de seus três derivados (hidrocarbonetos, hidrocarbonetos derivados e ésteres), o mesmo íon m/z 123, o que é indicativo de que, no ácido original, a carboxila se encontrava ligada ao anel B. Além da observação do pico-base, também foi observado nos espectros de massas de todos esses picos, a ocorrência do pico correspondente ao íon molecular (M^+) com m/z igual $14n-2$ e um pico com m/z correspondente à perda de metila ($M-15$). Estes constituintes também foram observados no derivado hidrocarboneto deuterado, onde aparecem com o acréscimo de 1 dalton. Estas observações levaram a propor, com segurança, que esses compostos são derivados de ácidos bicíclicos com a carboxila ligada ao anel B ou à ramificações deste anel.

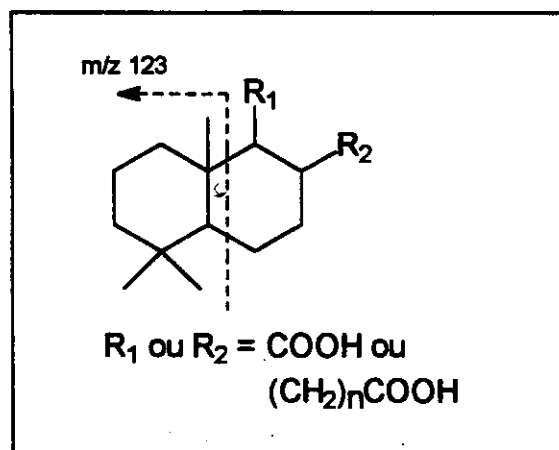


Figura 29: Estrutura genérica de ácido bicíclico com indicação do fragmento correspondente ao pico-base do EM

Embora tenha sido detectado um menor número de compostos bicíclicos nos derivados de ácidos, eles se distribuem numa faixa mais ampla de homólogos (de C_{15} a C_{20}) que os encontrados na fração neutra que abrange apenas a faixa de C_{14} a C_{16} . Deve-se observar também que a faixa desses compostos encontrados nos derivados da fração ácida está deslocada, no seu limite mínimo, para um carbono a mais que os compostos da fração neutra, o que concorda com a hipótese de formação da fração neutra por simples descarboxilação dos constituintes ácidos.

Registros, na literatura, da ocorrência desses compostos em petróleo são muito raros, conforme comentado na seção IV.1.4. (pag. 54).

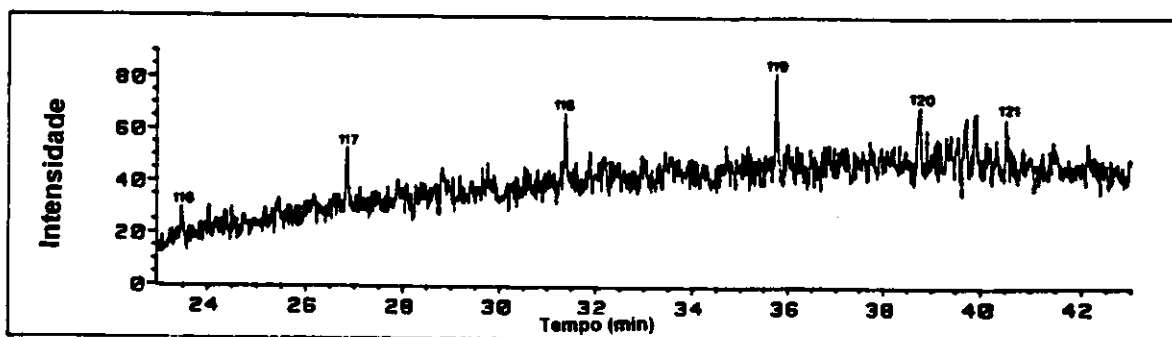


Figura 30: RIC m/z 123 da fração HHA da amostra A

Tabela 11: Ácidos terpanóicos bicíclicos, detectados como hidrocarbonetos derivados, através do RIC m/z 123, da fração HHA (figura 30)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
116	Ácido terpanóico bicíclico em C ₁₅	123	193	208
117	Ácido terpanóico bicíclico em C ₁₆	123	207	222
118	Ácido terpanóico bicíclico em C ₁₇	123	221	236
119	Ácido terpanóico bicíclico em C ₁₉	123	249	264
120	Ácido terpanóico bicíclico em C ₂₀	123	263	278
121	Ácido terpanóico bicíclico em C ₂₀	123	263	278

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M⁺ = íon molecular

(4) Os números indicados nas colunas PB, M-15 e M⁺, correspondem aos de valores de m/z destes íons, no hidrocarboneto derivado do respectivo ácido

IV.2.4. Ácidos terpanóicos tetracíclicos:

Nas análises que foram realizadas nos derivados de ácidos das quatro amostras estudadas, ao contrário do que ocorreu com as análises das frações neutras, não foi detectada a ocorrência dos correspondentes derivados dos ácidos terpanóicos tetracíclicos.

IV.2.5. Ácidos terpanóicos tricíclicos e pentacíclicos:

Os hidrocarbonetos, hidrocarbonetos deuterados e ésteres metílicos derivados destes compostos foram pesquisados nas respectivas frações a

partir dos RICs m/z 191, na fração HHA; m/z 191 e 192, na fração HDA, e m/z 191 e 235, na fração EMA. Em todas estas frações esses compostos foram detectados através do RIC m/z 191 (figuras 24 e 27).

Tal fato é uma evidencia de que a carboxila original do ácido não estava ligada ao sistema de anéis "AB", caso contrario, os acréscimos de massa correspondentes ao deutério, na fração HDA, e ao éster metílico, na fração EMA, teriam se refletido em um aumento das massas dos respectivos fragmentos "AB", o que faria com que esses compostos fossem detectados através dos RICs m/z 192, na fração HDA e m/z 235, na fração EMA.

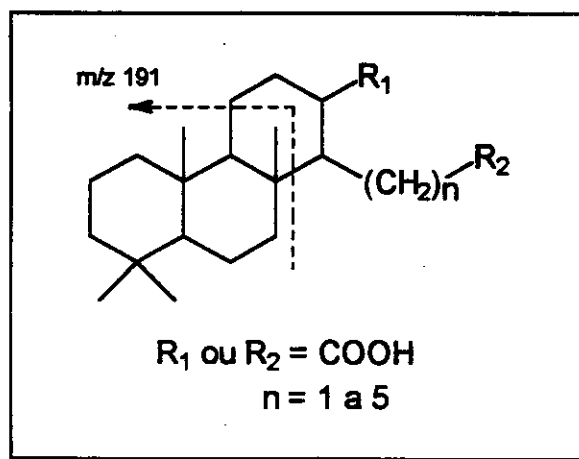


Figura 31: Estrutura genérica de ácido tricíclico com indicação do fragmento correspondente ao pico-base do EM

Os picos correspondentes aos terpanos tricíclicos detectados na fração HHA estão mostrados na figura 32 (picos 122 a 126) e as respectivas atribuições estão na tabela 12. A identificação desses compostos foi proposta com base na análise de seus espectros, onde observou-se o pico-base m/z 191 para os tres derivados, e os picos correspondentes ao íon molecular (M^+ , com m/z $14n-4$) e à perda de metila ($M-15$). Esses dois picos aparecem nos derivados: hidrocarboneto deuterado e éster, com o acréscimo de, respectivamente, 1 e 44 daltons no valor de m/z , o que nos indica que no ácido original a carboxila se encontrava ligada ao anel C. Estas observações levaram a propor a identificação desses compostos como sendo ácidos terpanóicos tricíclicos.

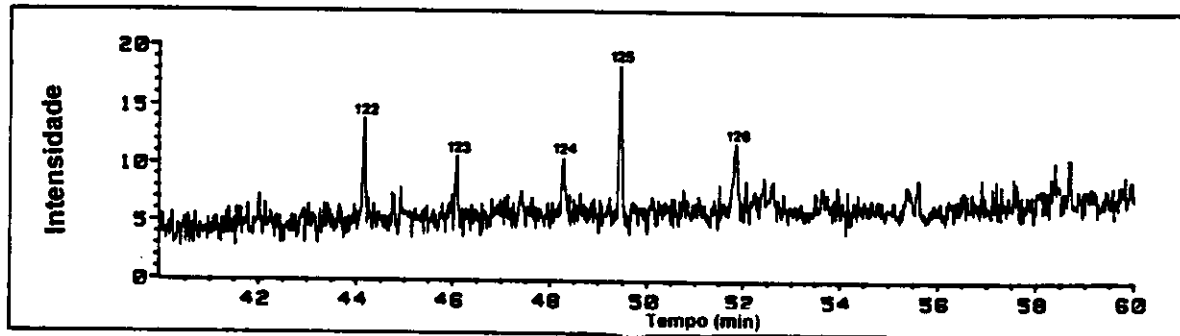


Figura 32: RIC m/z 191 (terpanos tricíclicos) da fração HHA da amostra A

Tabela 12: Ácidos terpanóicos tricíclicos, detectados como hidrocarbonetos derivados, através do RIC m/z 191, da fração HHA (figura 32)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
122	Ácido terpanóico tricíclico em C ₂₁	191	275	290
123	Ácido terpanóico tricíclico em C ₂₂	191	289	304
124	Ácido terpanóico tricíclico em C ₂₃	191	303	318
125	Ácido terpanóico tricíclico em C ₂₄	191	317	332
126	Ácido terpanóico tricíclico em C ₂₅	191	331	346

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M⁺ = íon molecular

(2) Os números indicados nas colunas PB, M-15 e M⁺, correspondem aos de valores de m/z destes íons, no hidrocarboneto derivado do respectivo ácido.

A abundância relativa de ácidos tricíclicos sobre pentacíclicos (T/P) é proposta por Behar e Albrecht (1984) como um indicador de biodegradação em face da substancialmente maior resistência dos primeiros. Nas amostras analisadas, esta relação entre os derivados ácidos é maior que a relação entre os correspondentes hidrocarbonetos da fração neutra, no entanto, a abundância dos ácidos pentacíclicos ainda é significativamente superior à dos tricíclicos, como pode ser visto na figura 33, a seguir.

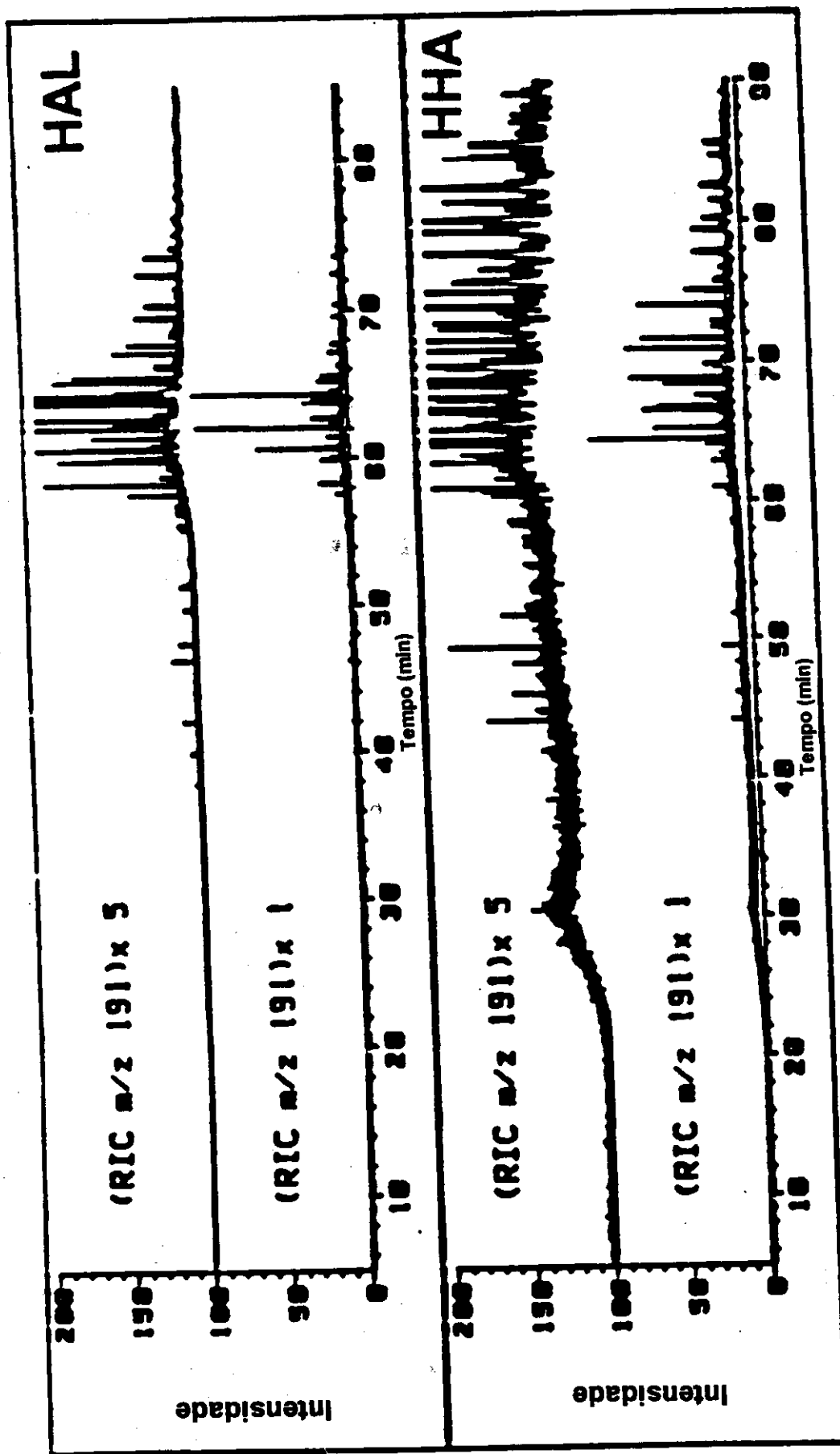


Figura 33: RICs m/z 191 das frações HAL e HHA, mostrando as abundâncias relativas entre tricíclicos (T, região entre 36 e 56 min) e pentacíclicos (P, região entre 56 e 90 min).

Os pentacíclicos hopanóides foram detectados através do RIC m/z 191 (figura 35, picos 127 a 151), e os compostos correspondentes aos picos 129 a 151 foram confirmados através da análise dos RICs m/z 205, 219, 233, 247, 263 e 275, da fração HHA (figura 36); m/z 206, 220, 234, 248, 264 e 276, da fração HDA (figura 37) e 249, 263, 277, 291, 307 e 319, da fração EMA (figura 38), cujos valores, considerando $z=1$, correspondem às massas dos fragmentos "DE" dos respectivos derivados.

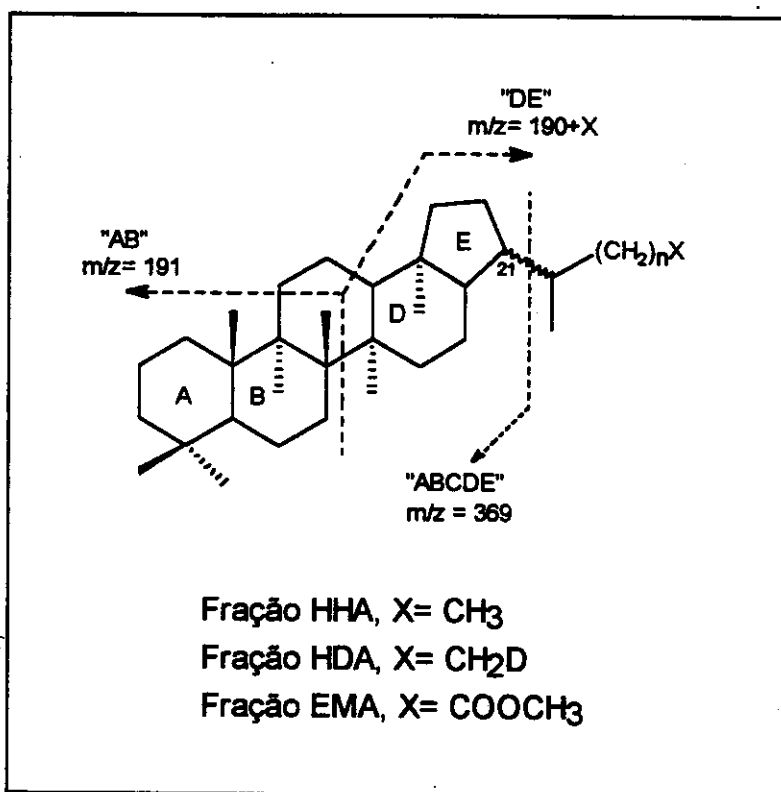


Figura 34: Estrutura molecular e principais fragmentos de massa de derivados de Ácidos terpênicos hopanóides

O estudo destes RICs associado com a análise dos espectros de massas correspondentes aos diversos picos, com dados da literatura e com os dados obtidos no estudo da fração neutra, levaram a propor a identificação desses compostos como sendo os listados nas tabela 13 e assinalados no RIC m/z 191 da figura 35.

Na análise dos espectros dos compostos representados pelos picos 127 e 128 destaca-se, como fundamentais para suas identificações, a ocorrência de:

(1). Pico-base m/z 191, correspondente aos fragmentos "AB" e "DE" nos hidrocarbonetos neutros (fração HHA) e somente ao fragmento "AB" nos derivados deuterado (fração HDA) e éster (fração EMA). O pico correspondente ao fragmento "DE" apresentou m/z 192 na fração HDA e 235 na fração EMA;

(2) Pico com m/z 369 (fragmento "ABCDE"), observado em todos os três derivados (HHA, HDA, EMA), indicando incontestavelmente que no ácido a carboxila se encontra na ramificação ligada à C-21;

(3), Os picos correspondentes ao íon molecular e à perda de metila (M-15), com valores de m/z , respectivamente, 412 e 397 para os hidrocarbonetos (fração HHA), 413 e 398 para os hidrocarbonetos deuterados (fração HDA) e 456 e 441 para os ésteres (fração EMA), concordantes com o que se esperaria para um hidrocarboneto pentacíclico saturado, com trinta átomos de carbonos ($C_{30}H_{52}$) e seus respectivos derivados, monodeuterado e éster metílico.

A distinção entre os isômeros hopano e moretano foi feita com base nos seus tempos de retenção.

Na análise dos espectros de massas dos demais pentacíclicos, as séries de homohopanos e homomoretanos, também se destaca como importantes para suas identificações a ocorrência dos picos correspondentes aos íons moleculares e aos mesmos fragmentos acima citados: "M-15"; "AB"; "DE" e "ABCDE". Todos estes compostos apresentaram o pico correspondente ao fragmento "AB" com m/z igual 191 e o pico correspondente ao fragmento "ABCDE" igual a 369, em todos os três derivados de ácido, indicando que, também nestes compostos, a carboxila do ácido original se encontra ligada à ramificação em C-21. O íon molecular e os demais fragmentos que incluem a ramificação em C-21 apresentaram valores de m/z acrescidos de 14 daltons para cada CH_2 homologado. A diferenciação entre os isômeros homohopanos e homomoretanos foi feita com base na razão entre as abundâncias relativas dos picos correspondentes aos fragmentos "AB" e "DE". Nos primeiros esta razão é maior que 1, enquanto que nos homomoretanos a mesma razão é menor que 1. A identificação dos epímeros em C-22 (R e S) das duas séries foi estabelecida com base nos tempos de retenção: o epímero 22S elui primeiro que o 22R.

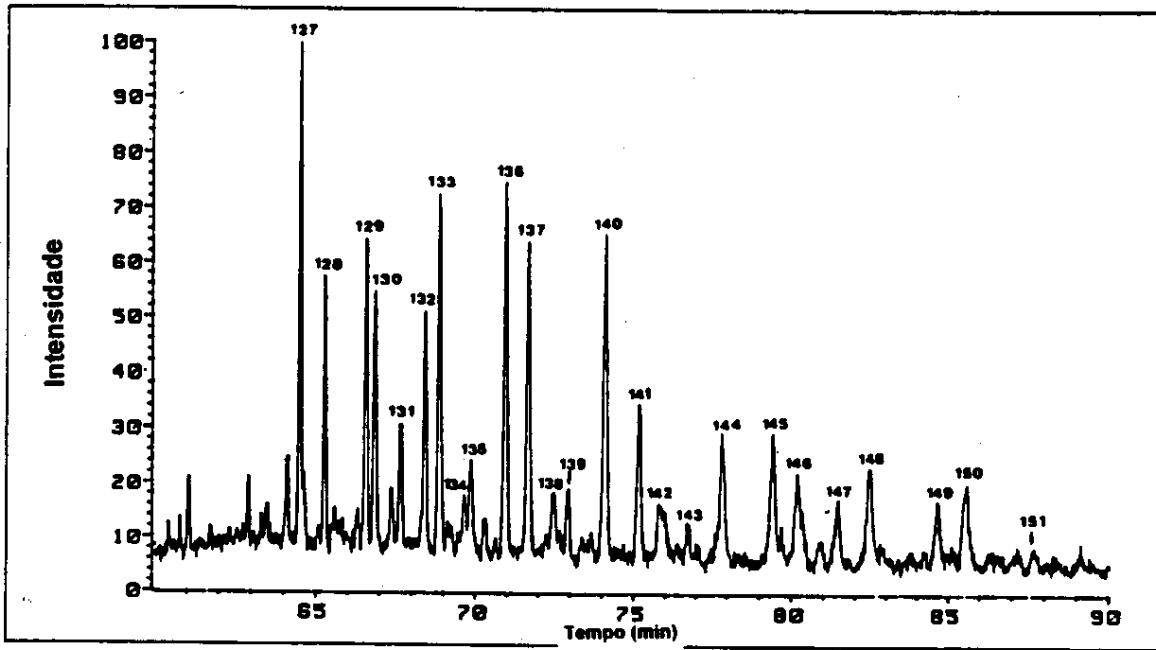


Figura 35: RIC m/z 191 (terpanos pentacíclicos) da fração HHA (amostra A).

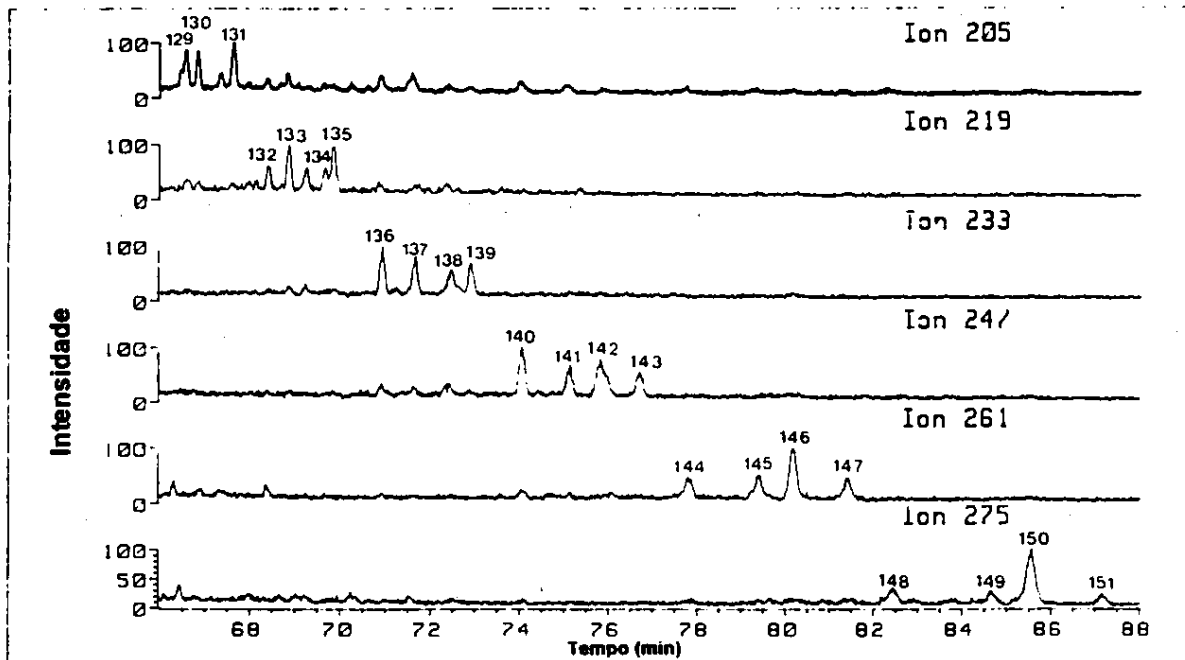


Figura 36: RICs m/z 205, 219, 233, 247, 261 e 275 da fração HHA, da amostra A

Tabela 13: Ácidos terpanóicos pentacíclicos, detectados como hidrocarbonetos derivados, através do RIC m/z 191, da fração HHA (figura 35)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
127 (31)	C ₃₀ -Ácido αβ-hopanóico	191	397	412
128 (35)	C ₃₀ -Ácido βα-moretanóico	191	397	412
129 (37)	C ₃₁ -Ácido αβ-homohopanóico (22S)	191	411	426
130 (38)	C ₃₁ -Ácido αβ-homohopanóico (22R)	191	411	426
131 (39)	C ₃₁ -Ácido βα-homomoretanóico	205	411	426
132 (40)	C ₃₂ -Ácido αβ-bishomohopanóico (22S)	191	425	440
133 (41)	C ₃₂ -Ácido αβ-bishomohopanóico (22R)	191	425	440
134 (42)	C ₃₂ -Ácido βα-bishomomoretanóico (22S)	219	425	440
135 (43)	C ₃₂ -Ácido βα-bishomomoretanóico (22R)	219	425	440
136 (44)	C ₃₃ -Ácido αβ-trishomohopanóico (22S)	191	439	454
137 (45)	C ₃₃ -Ácido αβ-trishomohopanóico (22R)	191	439	454
138 (46)	C ₃₃ -Ácido βα-trishomomoretanóico(22S)	233	439	454
139 (47)	C ₃₃ -Ácido βα-trishomomoretanóico(22R)	233	439	454
140 (48)	C ₃₄ -Ácido αβ-tetrakishomohopanóico (22S)	191	453	468
141 (49)	C ₃₄ -Ácido αβ-tetrakishomohopanóico(22R)	191	453	468
142 (50)	C ₃₄ -Ácido βα-tetrakishomomoretanóico (22S)	247	453	468
143 (51)	C ₃₄ -Ácido βα-tetrakishomomoretanóico (22R)	247	453	468
144 (52)	C ₃₅ -Ácido αβ-pentakishomohopanóico (22S)	191	467	482
145 (53)	C ₃₅ -Ácido αβ-pentakishomohopanóico (22R)	191	467	482
146 (54)	C ₃₅ -Ácido βα-pentakishomomoretanóico (22S)	261	467	482
147 (55)	C ₃₅ -Ácido βα-pentakishomomoretanóico (22R)	261	467	482
148	C ₃₆ -Ácido αβ-hexakishomohopanóico (22S)	191	481	496
149	C ₃₆ -Ácido αβ-hexakishomohopanóico (22R)	191	481	496
150	C ₃₆ -Ácido βα-hexakishomomoretanóico (22S)	275	481	496
151	C ₃₆ -Ácido βα-hexakishomomoretanóico (22R)	275	481	496

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M⁺ = íon molecular

(4) Os números indicados nas colunas PB, M-15 e M⁺, correspondem aos de valores de m/z destes íons, no hidrocarboneto derivado do respectivo ácido

(5) αβ = 17α(H),21β(H) e βα = 17β(H),21α(H)

(6) Os picos 129 a 151 (ácidos homohopanóicos e homomoretanóicos) foram confirmados através dos RICs m/z 205, 219, 233, 247, 261 e 275, da fração HHA (figura 36)

(7) Os números colocados entre parênteses na primeira coluna da tabela são dos picos dos correspondentes hidrocarbonetos detectados na fração HAL

(8) Nas séries de homohopanos e homomoretanos, as homologações se dão, sequencialmente, nos carbonos 30, 31, 32, 33, 34 e 35

Na tabela 13 pode-se observar a inclusão de mais um homólogo da série dos homohopanos e dos homomoretanos, que não foram detectados na fração neutra: são os hexakishomohopano e hexakishomomoretanos. Estes compostos não são inéditos, mas a detecção deles é pouco comum, com as séries de homólogos de hopano e moretano limitando-se, em geral, aos membros até C₃₅ (pentakis).

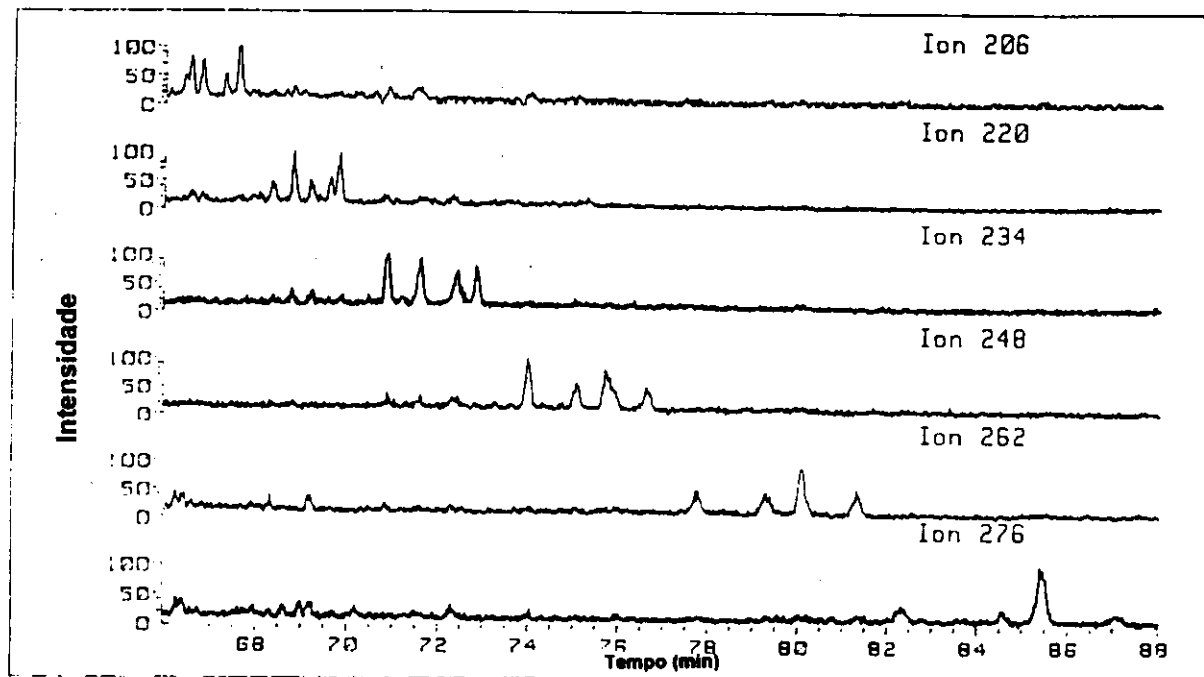


Figura 37: RICs m/z 206, 220, 234, 248, 262 e 276 da fração HDA, da Amostra A

O perfil do RIC m/z 191 dos derivados de ácido é significativamente diferente do perfil deste mesmo RIC da fração neutra. Como pode ser visto na figura 39 (pag. 69), que mostra os RICs das duas frações.

Nos derivados de ácidos observamos um substancial aumento relativo dos homohopanos e homomoretanos e não detecção dos nor-hopanos. Também observamos, através dos RICs 205, 219, 233, 247, 261 e 275 (figura 36) um significativo aumento das abundâncias relativas dos homomoretanos com configuração 22S.

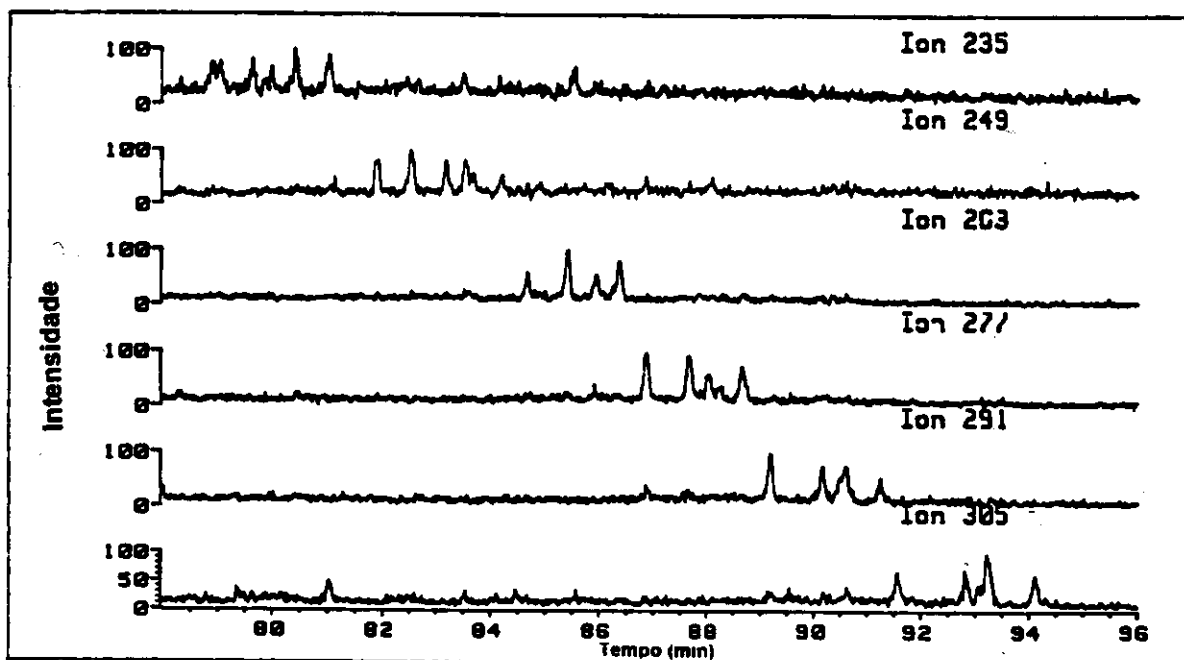


Figura 38: RICs m/z 235, 249, 263, 277, 291, 305 e 319 da fração EMA, da amostra A.

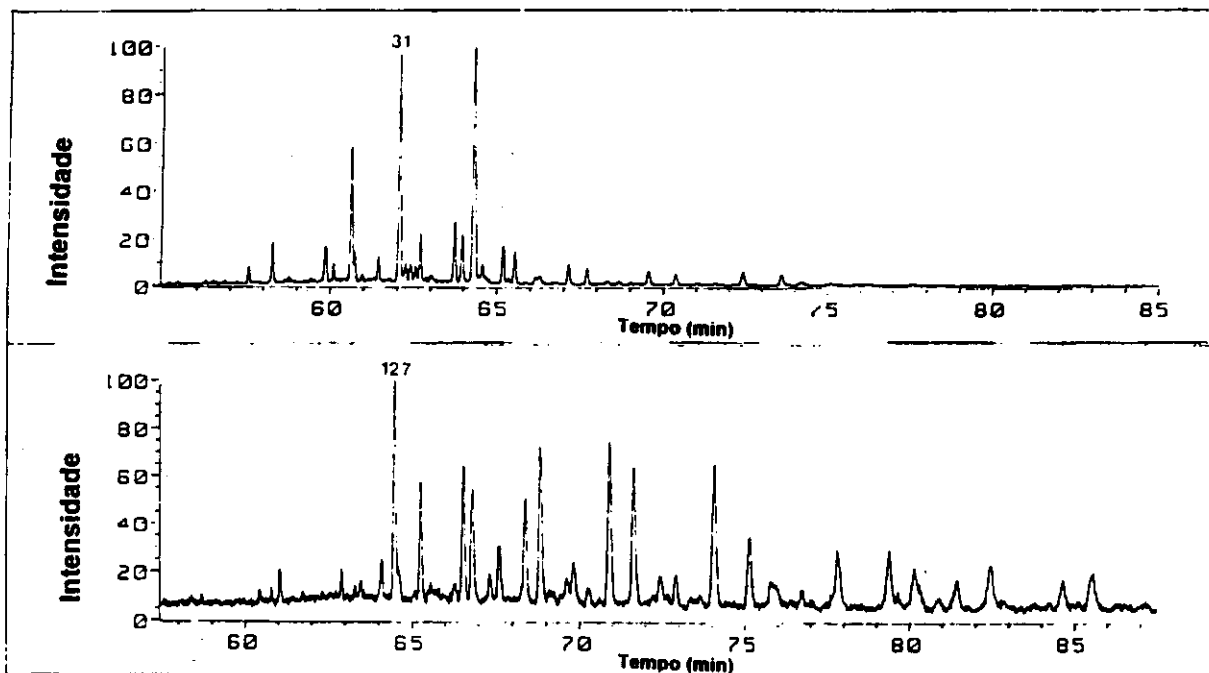


Figura 39: RIC m/z 191 da fração HAL e da fração HHA do óleo A

IV.2.6. Ácidos esteranoicos:

A análise do RIC m/z 217 mostrou a ocorrência de apenas três compostos (152, 153 e 154, assinalados na figura 40 e listados na tabela 14) cujos espectros apresentavam este íon como pico-base, o que difere muito do grande número de compostos identificados a partir desse mesmo RIC na fração neutra.

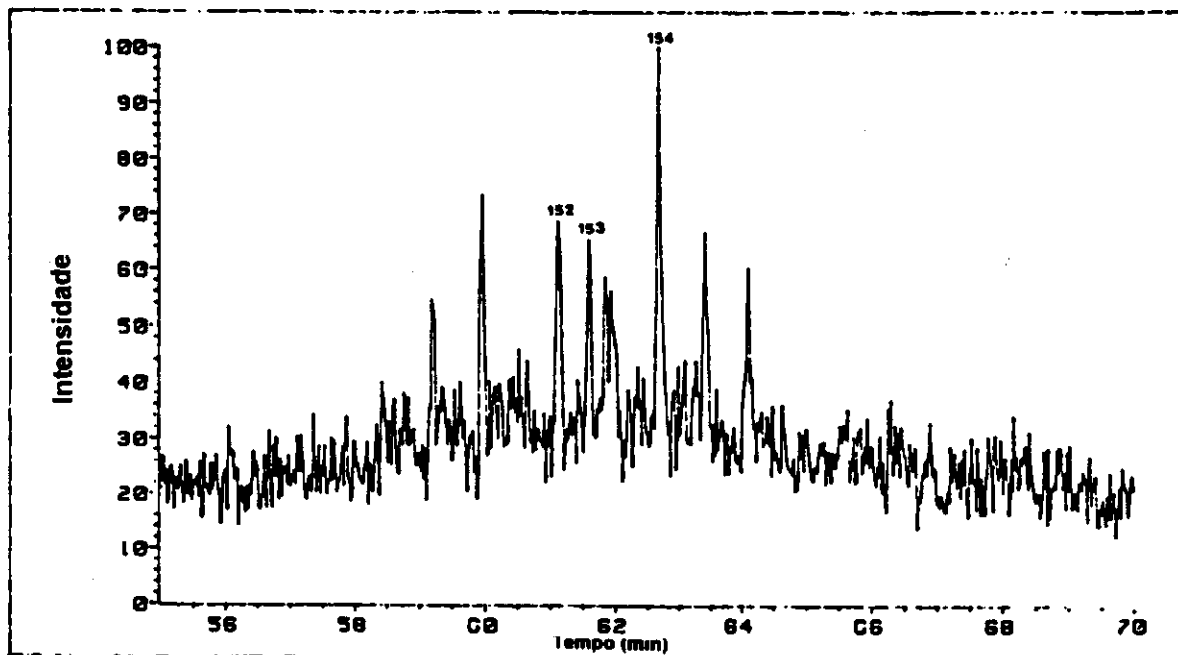


Figura 40: RIC m/z 217 da da fração HHA, da amostra A.

Tabela 14: Ácidos esteranoicos, detectados como hidrocarbonetos derivados, através dos RICs m/z 217, da fração HAL (figura 40)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
152	C ₂₈ -Ácido 24-metilcoleanólico	217	371	386
153	C ₂₈ -Ácido 24-metilcoleanólico	217	371	386
154	C ₂₉ -Ácido 24-etilcoleanólico	217	385	400

- (1) PB = íon correspondente ao pico-base;
- (2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;
- (3) M⁺ = íon molecular
- (4) Os números indicados nas colunas PB, M-15 e M⁺, correspondem aos valores de m/z destes íons, no hidrocarboneto derivado do respectivo ácido

Nos derivados da fração ácida estes compostos se tornaram escassos ao tempo em que houve um aumento dos derivados A-alquilados, menos abundantes na fração neutra. Fato que pode ser facilmente visualizado na figura 41 mostrada a seguir

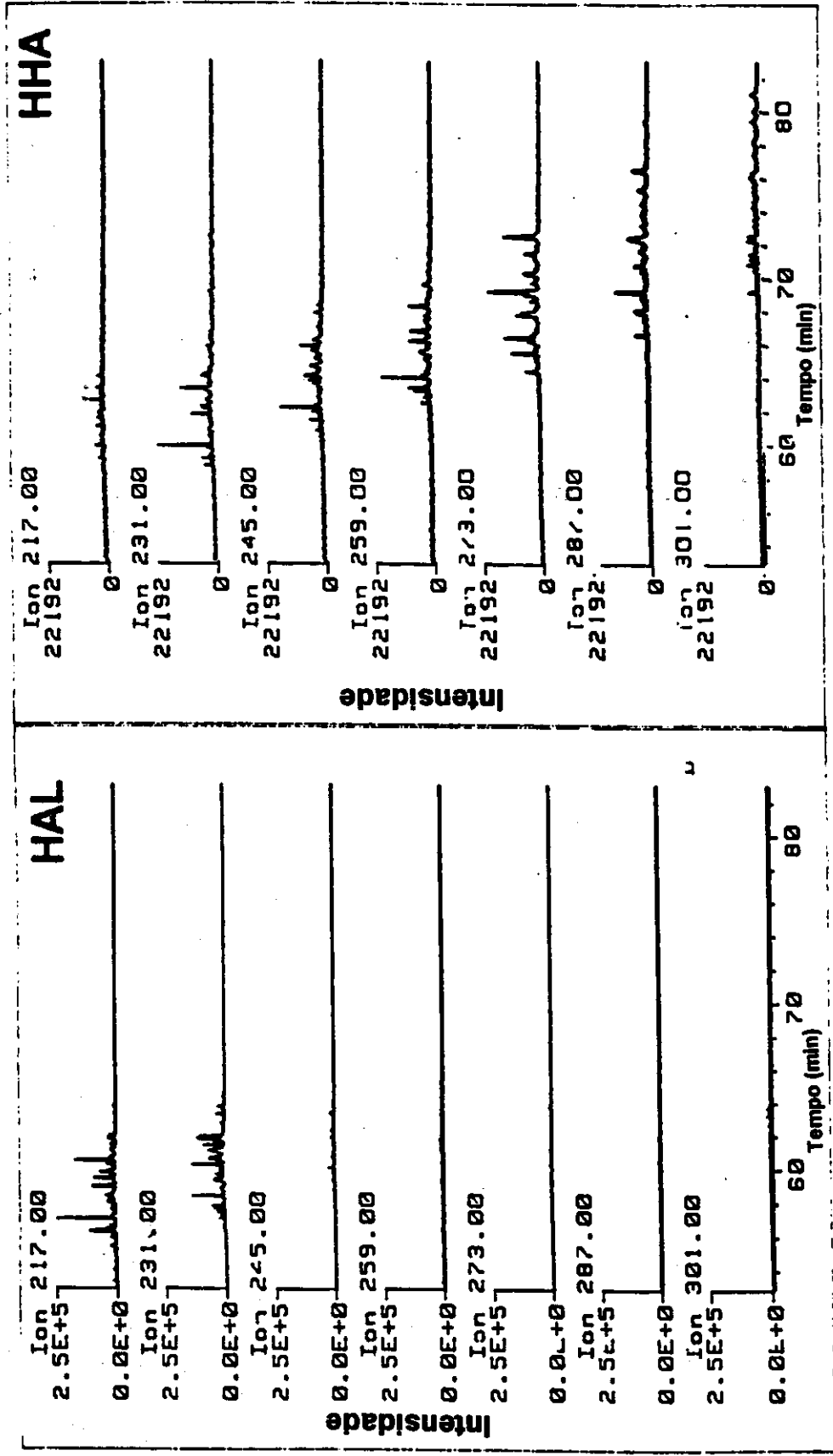


Figura 41: Abundâncias relativas de esteranos e alquil esteranos, nos RICs m/z 217, 231, 245, 259, 273, 287 e 301 das frações HAL e HHA

IV.2.7. Ácidos alquil-esteranóicos:

A análise preliminar dos espectros de massas dos principais constituintes do TIC (figura 27) da fração HHA, de cada óleo, indicou a ocorrência de uma série de compostos, cujos espectros apresentavam um padrão semelhante aos esteranos. Esses espectros (figura 42) mostravam, como principal característica, picos-bases com m/z igual a $217+14n$.

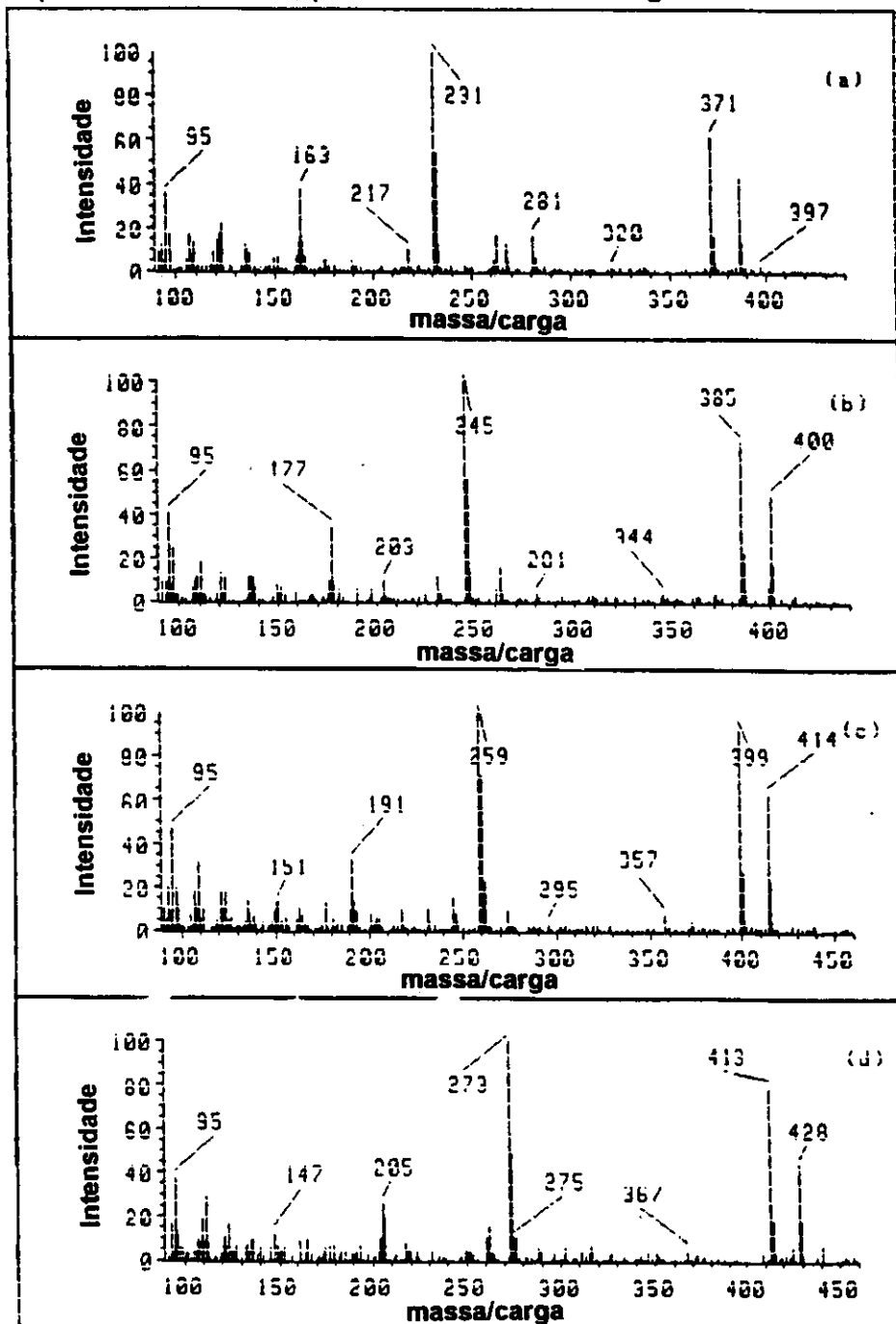


Figura 42: espectros de massas dos compostos correspondentes aos picos a,b,c,d da figura 27 (pag. 57)

Analisando os espectros, verifica-se que eles apresentam os seguintes íons característicos:

Espectro a: íons m/z 163, 231 (pico-base), 262, 371 e 386;

Espectro b: íons m/z 177, 245 (pico-base), 262, 385 e 400;

Espectro c: íons m/z 191, 259 (pico-base), 262, 399 e 414;

Espectro d: íons m/z 205, 273 (pico-base), 262, 413 e 428.

Estes dados estão compatíveis com uma série homóloga de A-alkilcolestanos, como pode ser visto na figura 43, mostrada a seguir. Os dois primeiros e dois últimos íons de cada espectro podem ser atribuídos a fragmentos que contêm o anel A: fragmentos "AB", "ABC", "M-15" e "M+" ; e o íon presente em todos os espectros, o íon 262, corresponde ao fragmento que não contém o anel A: fragmento "BCD", com R igual a hidrogênio.

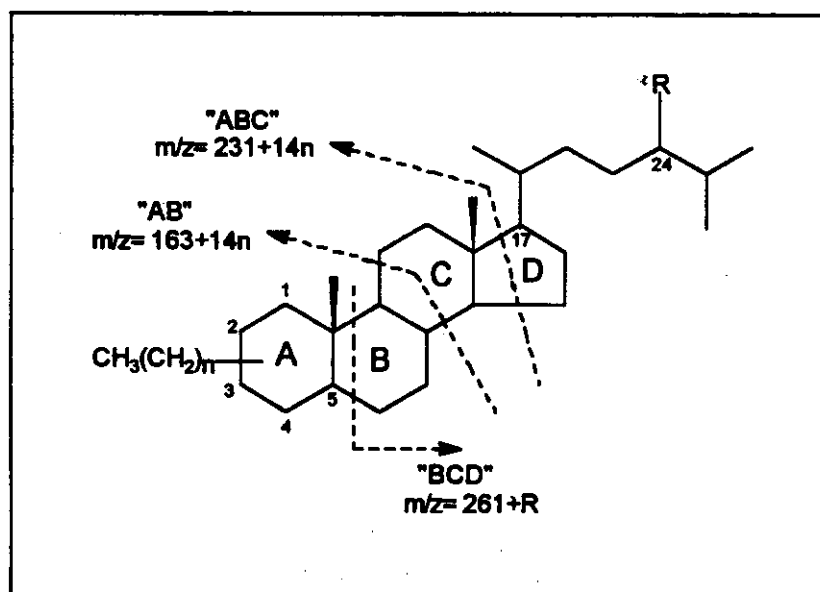


Figura 43: estrutura molecular e principais fragmentos de massa de esteranos

A detecção desses compostos despertou a atenção para a importância de se pesquisar, mais amiúde, os RICs correspondentes a seus picos-bases, estendendo essa pesquisa à possível ocorrência de homólogos superiores. Como resultado, constatou-se a presença de uma série de alquil-esteranos, com o grupo alquila ligado ao anel A variando de metil a hexil e, com o íon que atribuímos ao fragmento "BCD", apresentando valores de m/z 262, 276 e 290, o que pode ser associado à ocorrência das séries de A-alkilcolestanos, -ergostanos e -estigmastanos, respectivamente. Estes compostos estão assinalados na figura 44, com os números de 155 a 202, e estão listados na tabela 15. A ocorrência destes compostos foi confirmada pela detecção dos respectivos derivados nas

frações de hidrocarbonetos deuterados (figura 45) e éster metílico (figura 46).

As propostas de identificação desses compostos foram feitas com base nas análises dos espectros de massas correspondentes a cada pico e comparação com dados da literatura, sendo que, os compostos 155, 157, 161, 164, 171, 179 e 181 coeluíram com padrões sintéticos, corroborando as atribuições propostas com base nas análises de seus espectros de massas.

Em cada composto, a definição do grupo alquila ligado ao anel A foi feita com base no valor de m/z para o pico-base: 231 para metil, 245 para etil, 259 para n-propil, 273 para n-butil, 287 para n-pentil e 301 para n-hexil. A atribuição de cadeia normal para os substituintes a partir do propil baseou-se no fato de que os tempos de retenção relativos desses compostos, sugerem que se trata de uma série de homologações lineares. Isto foi confirmado para o caso das coinjeções comentadas mais à frente.

A localização do grupo alquila no anel A foi confirmada pela observação do acréscimo de massa, correspondente ao respectivo grupo alquila, em todos os fragmentos que contém esse anel (figura 43).

A posição do anel, ocupada pelo grupo alquila em cada composto, foi proposta a partir da análise dos seus espectros de massas e comparação com dados da literatura. Um dado importante para isto foi a observação da razão entre as abundâncias relativas do íon molecular (M^+) e do íon correspondente à perda de metila ($M-15$). Nos espectros dos padrões (3-alquil) esta relação é sempre menor que 1, enquanto que nos espectros dos 4-alquil esteranos encontrados na literatura essa relação é sempre maior que 1, o que indica que, de alguma forma, a presença do grupo alquila na posição 3 favorece mais a perda de metila, que na posição 4.

Em analogia com os esteranos não alquilados, cuja razão entre as abundâncias relativas dos íons 149 e 151 varia de acordo com a geometria da junção de anéis A/B, sendo maior que 1 para a junção TRANS, $5\alpha(H)$, e menor que 1 para a junção CIS, $5\beta(H)$, a estereoquímica do hidrogênio ligado a C-5 (α ou β), nos alquil-esteranos identificados neste trabalho, foi atribuída com base na observação da razão entre as abundâncias relativas dos picos com m/z " $149+14n$ " e " $151+14n$ ", onde n corresponde ao número de carbonos do grupo alquila ligado ao anel A: maior que 1 para $5\alpha(H)$ e menor que 1 para $5\beta(H)$.

A identificação do grupo R ligado a C-24 foi feita com base no valor de m/z para o fragmento "BCD", 262 para hidrogênio, 276 para metil e 290 para etil. Um composto dimetilado na ramificação superior (em C-17) também geraria um íon "BCD" com m/z igual a 290, no entanto, nossa opção pelo grupo etil em C-24, em vez de dimetil, se deu pelo fato desses compostos apresentarem espectros semelhantes ao do 24-etilcolestano, especialmente no que diz respeito a abundância de $M-15$, que no caso do dimetil seria relativamente maior.

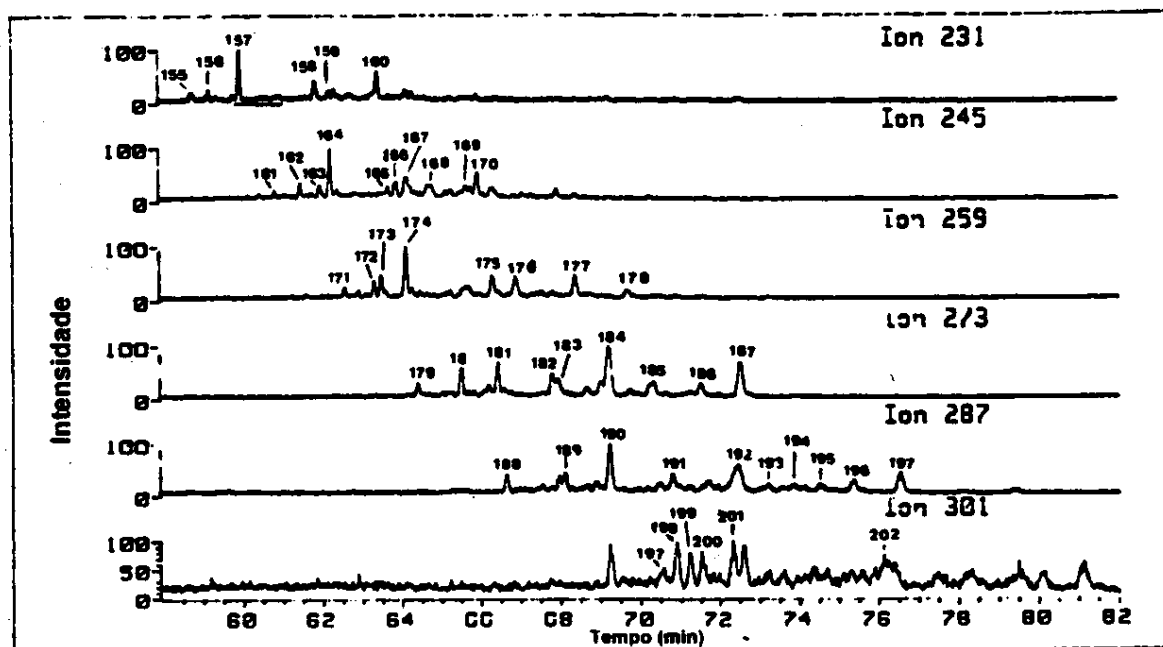


Figura 44: RICs m/z 231, 245, 259, 273, 287 e 301 da fração HHA, da amostra A

Tabela 15: Ácidos 3-Alquil-esteranóicos, detectados como hidrocarbonetos derivados, através dos RICs m/z 231, 245, 259, 273, 287 e 301, da fração HAL (figura 44)

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M ⁺
155	C28 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-metilcoleanóico (20R)	231	371	386
156	C28 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-metilcoleanóico	231	371	386
157	C28 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-metilcoleanóico (20R)	231	371	386
158	C29 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -4,24-dimetilcoleanóico	231	385	400
159	C30 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-metil-24-etilcoleanóico	231	399	414
160	C30 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-metil-24-etilcoleanóico	231	399	414
161	C29 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-etilcoleanóico (20R)	245	385	400
162	C29 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-etilcoleanóico	245	385	400
163	C29 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-etilcoleanóico	245	385	400
164	C29 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-etilcoleanóico (20R)	245	385	400
165	C30 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -4-etil-24-metilcoleanóico	245	399	414
166	C30 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -4-etil-24-metilcoleanóico	245	399	414
167	C30 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-etil-24-metilcoleanóico	245	399	414
168	C31 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-etil-24-etilcoleanóico	245	413	428

Tabela 15: Continuação...

PICO	COMPOSTO	PB	M-15	M*
169	C31 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -4-etil-24-etilcolestanóico	245	413	428
170	C31 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-etil-24-etilcolestanóico	245	413	428
171	C30 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-propilcolestanóico (20R)	259	399	414
172	C30 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-propilcolestanóico	259	399	414
173	C30 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-propilcolestanóico	259	399	414
174	C30 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-propilcolestanóico (20R)	259	399	414
175	C31 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-propil-24-metilcolestanóico	259	413	428
176	C31 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-propil-24-metilcolestanóico	259	413	428
177	C32 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-propil-24-etilcolestanóico	259	427	442
178	C32 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-propil-24-etilcolestanóico	259	427	442
179	C31 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-butilcolestanóico (20R)	273	413	428
180	C31 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-butilcolestanóico	273	413	428
181	C31 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-butilcolestanóico (20R)	273	413	428
182	C32 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-butil-24-metilcolestanóico	273	427	442
183	C32 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-butil-24-metilcolestanóico	273	427	442
184	C32 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-butil-24-metilcolestanóico	273	427	442
185	C33 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-butil-24-etilcolestanóico	273	441	456
186	C33 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-butil-24-etilcolestanóico	273	441	456
187	C33 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-butil-24-etilcolestanóico	273	441	456
188	C32 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-pentilcolestanóico	287	427	442
189	C32 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentilcolestanóico	287	427	442
190	C32 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentilcolestanóico	287	427	442
191	C33 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentil-24-metilcolestanóico	287	441	456
192	C33 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentil-24-metilcolestanóico	287	441	456
193	C34 - Ácido $\beta\alpha\alpha$ -3-pentil-24-etilcolestanóico	287	455	470
194	C34 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentil-24-etilcolestanóico	287	455	470
195	C34 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentil-24-etilcolestanóico	287	455	470
196	C34 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-pentil-24-etilcolestanóico	287	455	470
197	C33 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-hexilcolestanóico	301	441	456
198	C33 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-hexilcolestanóico	301	441	456
199	C33 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-hexilcolestanóico	301	441	456
200	C34 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-hexil-24-metilcolestanóico	301	455	470
201	C34 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-hexil-24-metilcolestanóico	301	455	470
202	C35 - Ácido $\alpha\alpha\alpha$ -3-hexil-24-etilcolestanóico	301	469	484

(1) PB = íon correspondente ao pico-base;

(2) M-15 = íon correspondente à perda de metila;

(3) M* = íon molecular

(4) Os números indicados nas colunas PB, M-15 e M*, correspondem aos de valores de m/z destes íons, no hidrocarboneto derivado do respectivo ácido

(5) As tres configurações indicadas em cada composto acima como α ou β , referem-se aos hidrogênios ligados, respectivamente, aos carbonos 5, 14 e 17

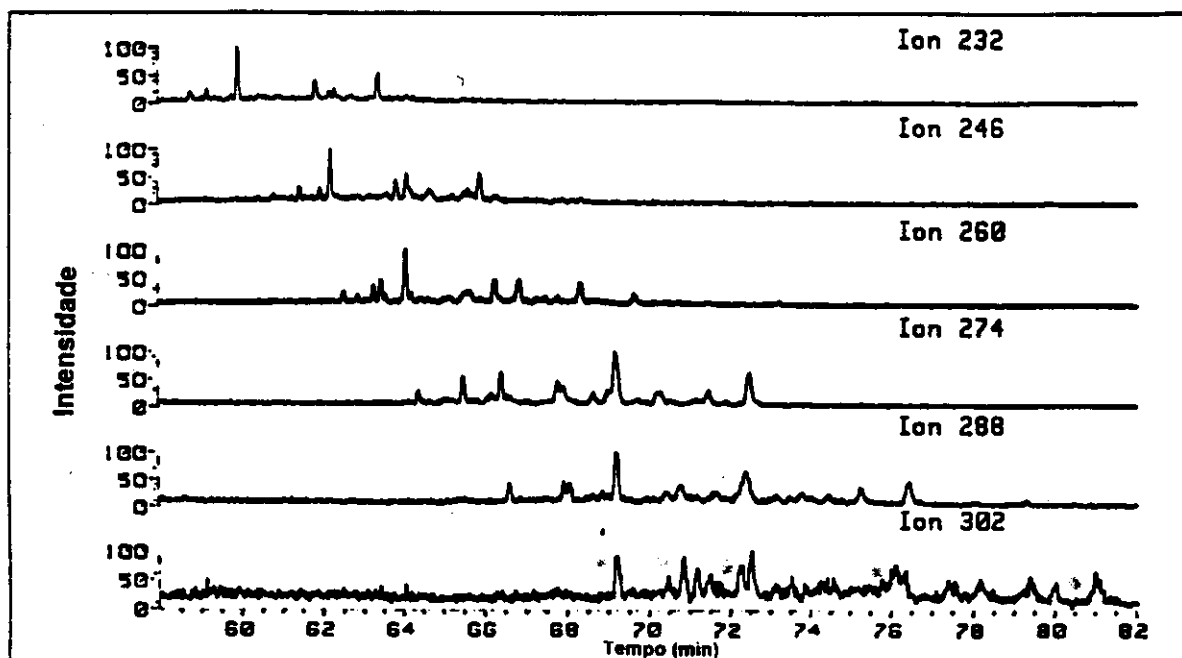


Figura 45: RICs m/z 232, 246, 260, 274, 288 e 302 da fração HDA, da amostra A

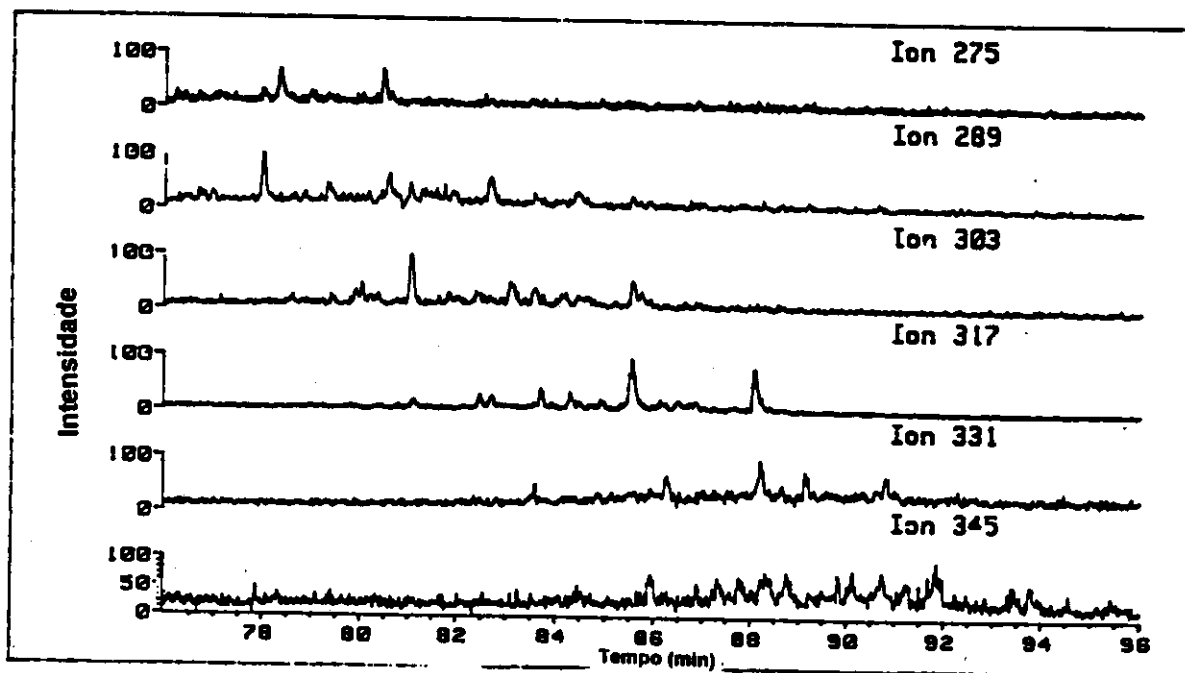


Figura 46: RICs m/z 275, 289, 303, 317, 331 e 345 da fração EMA, da amostra A

Para confirmar as identificações dos ácidos e hidrocarbonetos desta “nova classe” de compostos, detectados por CG-EM, foi sintetizada uma série de padrões que são apresentados no capítulo “síntese de 3-alkil esteranos”.

A síntese destes compostos permitiu o conhecimento seus padrões de fragmentação em espectrometria de massas e a comparação de seus espectros com os dos compostos que detectados nas amostras aqui estudadas.

Por outro lado, por co-injeção direta com a fração neutra, ratificou-se a identificação dos seguintes hidrocarbonetos:

1. 3 β -metil-5 α (H)-colestano
2. 3 β -etil-5 α (H)-colestano
3. 3 β -n-propil-5 α (H)-colestano
4. 3 β -n-butil-5 α (H)-colestano
5. 3 α -metil-5 β (H)-colestano
6. 3 α -etil-5 β (H)-colestano

A co-injeção destes mesmos padrões com os hidrocarbonetos derivados da fração ácida, confirmou a identificação dos ácidos:

1. 3 β -metil-5 α (H)-colestanoico
2. 3 β -etil-5 α (H)-colestanoico
3. 3 β -n-propil-5 α (H)-colestanoico
4. 3 β -n-butil-5 α (H)-colestanoico
5. 3 α -metil-5 β (H)-colestanoico
6. 3 α -etil-5 β (H)-colestanoico
7. 3 α -n-propil-5 β (H)-colestanoico
8. 3 α -n-butil-5 β (H)-colestanoico

Na figuras 47 e 48, apresentadas ao final deste capítulo, são mostrados os cromatogramas resultantes das co-injeções dos padrões das séries 5 α (H) e 5 β (H) com a fração de hidrocarbonetos derivados da fração ácida e na figura 49 são apresentados os espectros de massas dos picos resultantes das co-eluições.

A primeira citação de compostos deste tipo foi feita em 1988 por Summons e Capon, em comunicação ao *Geochimica et Cosmochimica Acta*, onde relatam, pela primeira vez, a ocorrência de 3 β -metil esteranos em sedimentos maduros e petróleo, e afirmam que seus precursores biológicos são ainda desconhecidos. Em 1990, Dany e colaboradores comunicam, também pela primeira vez, a ocorrência de 3 β -carboxi esteranos em sedimentos, aos quais denominam de “uma nova família de esteranos fósseis”. Em 1991, novamente Summons e Capon, comunicam a identificação de 3 β -etil esteranos em sedimentos e petróleo e sugere que

estes compostos podem resultar de modificações microbianas de esteranos sedimentares, durante a fase inicial de diagênese.

Somente em 1992, no entanto, a ocorrência de uma série completa de 3-alquil esteranos foi relatada. Naquele ano, como resultado do trabalho da presente tese, foi feita, no III Congresso Latino Americano de Geoquímica Orgânica, em Manaus-AM, o primeiro registro (Lopes et al. 1992) da ocorrência de uma variedade de ácidos 3-alquil esteranoicos, com:

- (i) configurações $5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$;
- (ii) número de carbonos do grupo ligado à C-3, variando de 1 a 6;
- (iii) hidrogênio (série dos colestanos), metil (série dos ergostanos) ou etil (série dos estigmastanos) ligado à C-24.

Conforme já discutido anteriormente, estes compostos foram detectados nas frações de hidrocarbonetos, hidrocarbonetos deuterados e ésteres metílicos, todas derivadas das frações ácidas dos óleos estudados e, posteriormente, em menor abundância, na forma dos correspondentes hidrocarbonetos, nas frações neutras dos mesmos óleos.

No mesmo ano, Dahl e colaboradores relataram em comunicação à revista Nature (Dahl et al., 1992), a ocorrência da mesma série de hidrocarbonetos, porém restrita aos compostos com configuração $5\alpha(H)$, a quem denominaram "uma nova classe de produtos naturais revelados em petróleo". Eles obtiveram os 3β -alquil $5\alpha(H)$ -esteranos a partir da redução com níquel de Raney dos correspondentes organossulfurados e, por analogia com os hopanos, sugeriram como seus precursores um composto formado a partir da adição de uma molécula de açúcar ao Δ^2 -estero, produto resultante da alteração diagenética de esteróis.

Em 1993, Schaeffer e colaboradores publicaram a ocorrência da série de ácidos carboxílicos, também restrita aos compostos com configuração $5\alpha(H)$, em rochas carbonáticas e sugeriram que a presença desses compostos, mais que indicativa de ambientes evaporíticos, como até então se dizia, seja característica de depósitos com um alto "input" microbiano.

Fica, portanto, evidente a importância da identificação desses compostos no presente trabalho uma vez que isto significou:

- (I) a descoberta, simultânea com Dahl e colaboradores, desta série dos 3β -alquil $5\alpha(H)$ -esteranos;
- (ii) o primeiro registro - que ainda continua inédito - da série dos isômeros com configuração $5\beta(H)$ e
- (iii) o primeiro registro da ocorrência dos respectivos derivados ácidos $5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$ em petróleo.

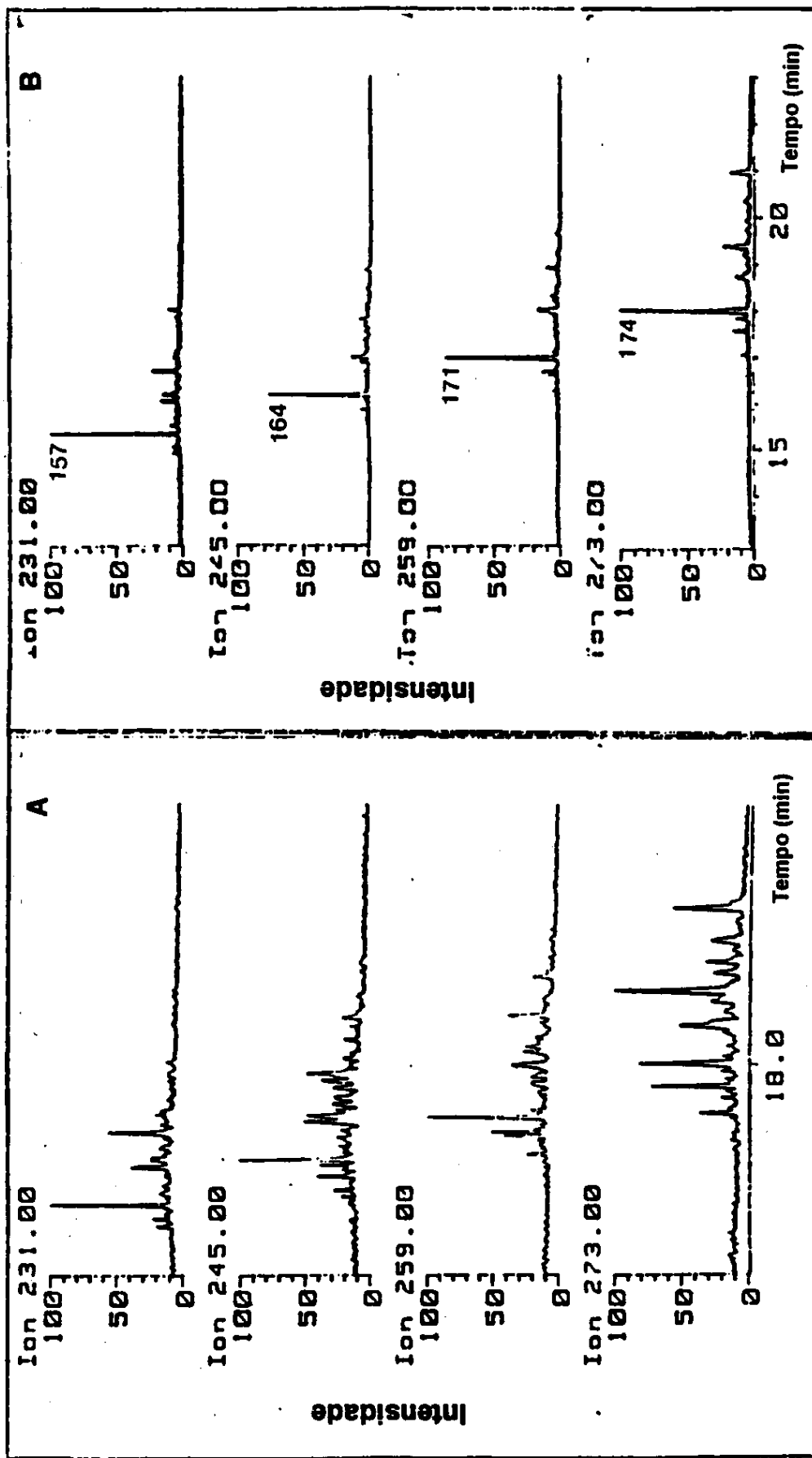


Figura 47: RICS m/z 231, 245, 259 e 273 (a) da fração HHA do óleo A. (b) resultantes da co-injeção de padrões das séries 5 α (H) com esta fração mostrando a co-eluição dos padrões com os compostos correspondentes aos picos 157, 164, 174 e 181.

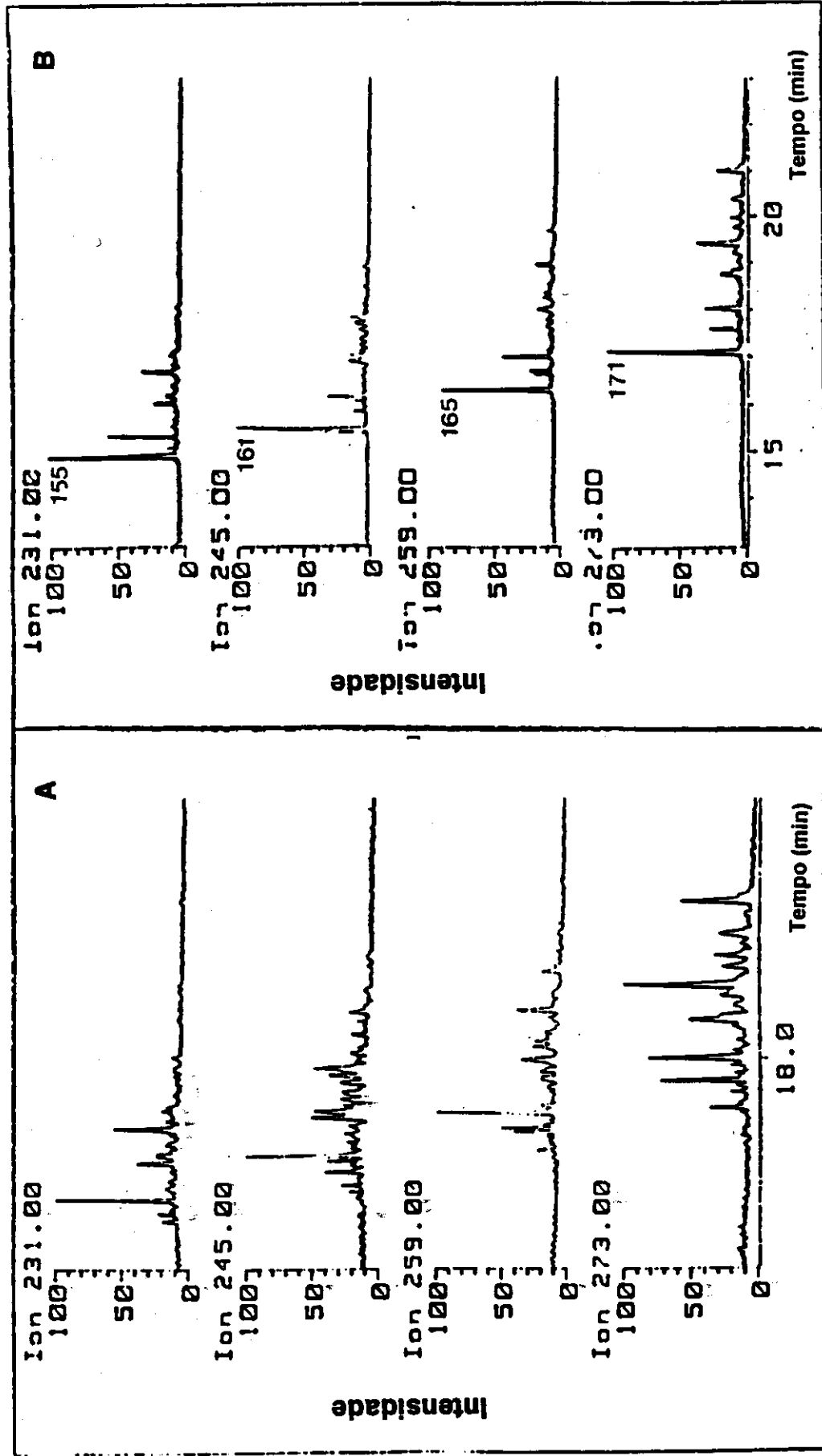


Figura 48: RICs m/z 231, 245, 259 e 273 (a) da fração HHA do óleo A. (b) resultantes da co-injeção de padrões das séries 5 β (H) com esta fração mostrando a co-eluição dos padrões com os compostos correspondentes aos picos 155, 161, 171 e 173.

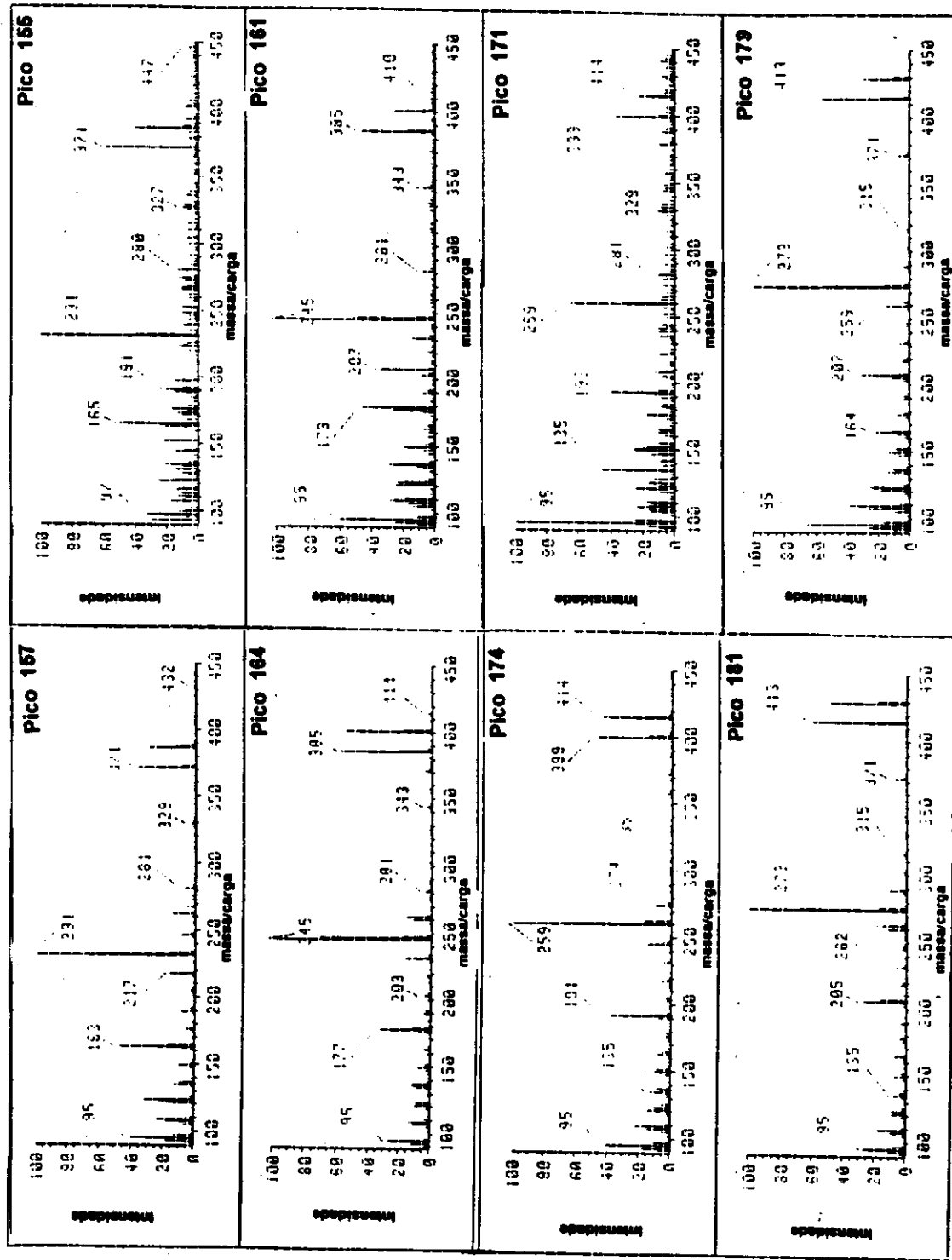


Figura 49: Espectros de massas dos picos resultantes da co-eluição dos padrões, conforme os RICs apresentados nas figuras 47 (picos 157, 164, 174 e 181) e 48 (picos 155, 161, 171 e 179).

IV. ESTUDO DE BIOMARCADORES ÁCIDOS

IV.3. CONCLUSÕES

O estudo da fração ácida revelou a presença de ácidos lineares, com predominância de C₁₆ e C₁₈, de ácidos terpanóicos bicíclicos e tricíclicos, ácidos hopanóicos, ácidos esteranóicos clássicos e ácidos alquil esteranóicos.

A presença de ácidos lineares sugere que a biodegradação destes óleos não atingiu níveis tão elevados como se supunha em face do perfil da fração neutra. A predominância de C₁₆ e C₁₈ observada entre estes ácidos, sugere a ocorrência de síntese "de novo".

A relação ácidos tricíclicos/ ácidos hopanóicos mostra um aumento da abundância relativa dos primeiros, quando comparada com a mesma relação nos correspondentes terpanos detectados na fração neutra; entretanto, ainda há uma significativa predominância dos ácidos hopanóicos o que também confirma um nível de biodegradação intermediária.

Dentre os ácidos esteranóicos, aqueles considerados clássicos estão praticamente ausentes, havendo uma predominância dos ácidos 3-alkil esteranóicos, abundantes nos quatro óleos estudados. Identificamos toda uma série de biomarcadores dos grupos colestano, ergostano e estigmastano, com configurações 5 α (H) e 5 β (H). Esses compostos uma vez evidenciados como ácidos foram pesquisados e identificados em menor proporção nas frações neutras, perfazendo um total de 73 constituintes. Este fato, que consideramos como a principal contribuição deste trabalho, é de grande relevância na química dos biomarcadores, uma vez que há poucos registros de suas ocorrências na literatura e nenhum deles relata um grupo tão grande de compostos, sendo ainda inéditos o registro da série de biomarcadores com configuração 5 β (H).

Alguns autores (Dahl et al., 1992; Peters e Moldowan, 1993) sugerem que estes compostos são formados a partir da adição de uma molécula de açúcar a Δ^2 -esterenos. Entretanto, a hipótese de se tratarem de derivados de produtos naturais de origem desconhecida não pode ser, *a priori*, excluída.

Todos os biomarcadores desta classe, descritos na literatura e também nesse trabalho foram detectados em óleos ou extratos de sedimentos de origem marinho-evaporítica ou carbonáticas, de onde deduzimos que se tratam de substâncias cuja diagênese está relacionada a ambientes salinos.

Tais compostos adquirem, pelo seu elevado número e diversidade estrutural, uma grande importância que requer estudos mais aprofundados, inclusive de paleoambiente, para que se possa entender o seu papel e esclarecer melhor sua origem.

V. SÍNTESIS DE 3-ALQUIL ESTERANOS

V.1. INTRODUÇÃO

No estudo dos biomarcadores presentes em óleos da Bacia Potiguar foi identificada uma série de compostos novos, da classe dos 3-alkil esteranos e dos correspondentes ácidos carboxílicos. Essa identificação foi feita com base na interpretação dos espectros de massas desses compostos, obtidos através das análises por CG-EM, quando, através da observação dos padrões de fragmentação chegou-se, na maioria dos casos, à atribuição, inclusive da estereoquímica dos importantes centros assimétricos C-5 e C-14 do sistema ciclopentanoperidrofenantreno (esteroidal).

A novidade estrutural, incluindo compostos com estereoquímica $5\beta(H)$, e o grande número de compostos identificados, despertou, de imediato, a atenção para a importância geoquímica deste resultado e para a necessidade de sua confirmação. Em face disso, tomou-se tarefa obrigatória a síntese, se não de todos, pelo menos de alguns biomarcadores, para possibilitar o estudo de seus padrões de fragmentação em espectrometria de massas e a comparação com os dados resultantes das análises de óleos realizadas no presente trabalho, bem como com dados da literatura. Estas sínteses possibilitariam também, através da co-injeção desses padrões, a confirmação das identificações propostas.

Como já foi comentado no capítulo anterior, os 3-alkil esteranos identificados pertencem às séries de $5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$ colestano, ergostano (24-metilcolestano) e estigmastano (24-etilcolestano). Em virtude da limitação de tempo e da disponibilidade de material de partida, decidimos restringir as sínteses aos biomarcadores das séries $5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$ colestano. A estratégia de síntese utilizada seria partir de reagentes com estereoquímica definida e trabalhar com reações químicas que nos levassem a obter os compostos com a configuração desejada ao nível dos carbonos 5 e 3 do sistema esteroidal.

Foram escolhidas rotas envolvendo reações clássicas, visto que o objetivo primordial era a obtenção de padrões e não o estudo de metodologias sintéticas. O colesterol era a matéria-prima mais barata e acessível e então decidiu-se pela sua utilização como substrato de partida.

A primeira idéia foi a de proceder à hidrogenação do colesterol e em seguida à sua oxidação, para obter a mistura de cetonas diastereoisoméricas, $5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$, que seriam separadas e então utilizadas como "synthons" para a preparação das duas séries de padrões; no entanto, já na primeira etapa do processo surgiram problemas uma vez que a esperada simples hidrogenação do colesterol levava simultaneamente

à desoxigenação do produto, dando como resultado uma mistura de colestanos $5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$ que não era interessante, uma vez que esses compostos não possuíam mais o sítio reativo em C-3, indispensável para a sequência de reações que deveria ser feita para a obtenção dos padrões desejados.

Em face disto, optou-se pela oxidação do colesterol, seguida de isomerização para se obter a cetona α,β -insaturada que, após hidrogenação, catalítica poderia fornecer uma mistura das cetonas diastereoisoméricas desejadas ou, dependendo das condições reacionais uma ou outra destas cetonas.

V.2. OBTENÇÃO DA COLESTA-4-EN-3-ONA

A primeira etapa da rota consistia, então, na oxidação do colesterol para **colesta-4-en-3-ona**. Para isto, foi escolhido o método de Jones (oxidação com CrO_3 , H^+), seguido de isomerização em meio alcalino, para enriquecer o produto em relação à cetona desejada (α,β -insaturada), que neste processo, é favorecida em detrimento do isômero não conjugado. A reação foi levada a efeito conforme descrito na seção VII.3.1. (pag.112), obtendo-se, como produto principal, com rendimento de 71 %, a colesta-4-en-3-ona que foi caracterizada por IV, EM e RMN de próton e de carbono-13.

No espectro de IV destacam-se a presença de uma banda intensa em 1670 cm^{-1} , característica de estiramento de carbonila α,β -insaturada e a ausência de bandas na região de 3500 cm^{-1} , característica da absorção do OH, indicando a total transformação do álcool precursor.

No espectro de massas destacam-se as presenças dos sinais gerados pelos íons: m/z 384(80%), correspondente ao íon molecular; m/z 369(10%), correspondente à perda de metila (em C-10 ou C-13); m/z 342(75%), correspondente à perda de ceteno; m/z 229(40%), correspondente à perda do grupo ligado a C-17 (C_8H_{17}) e o íon m/z 124(100%), correspondente ao anel A, cujos fragmentos estão indicados na figura 50, a seguir.

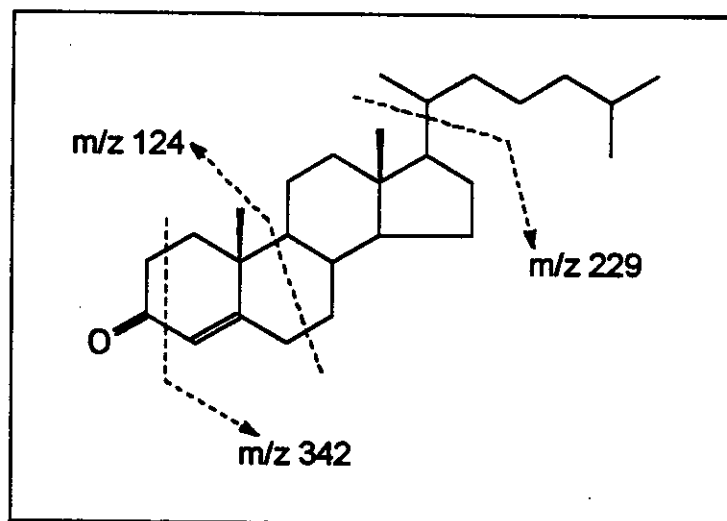


Figura 50: Fragmentos da colesta-4-en-3-ona

No espectro de RMN de ^1H destacam-se os sinais correspondentes aos prótons dos cinco grupos metilas, na faixa de 0,5 a 1,5 ppm e o sinal em 5,70 ppm correspondente ao próton olefínico alfa à carbonila.

No espectro de RMN de ^{13}C observam-se os sinais dos 27 carbonos, dentre eles, o sinal em 199,1 ppm, atribuído ao carbono carbonílico (C-3) e três outros sinais de carbonos não hidrogenados em 171,1; 42,3 e 38,5 ppm, atribuídos, respectivamente, aos carbonos C-5 (carbono olefínico), C-13 e C-10; sinais estes que não aparecem no espectro DEPT. Nos espectros DEPT-135 e DEPT-90, observam-se ainda, 5 sinais característicos de grupos metilas (CH_3), 11 sinais de carbonos metilênicos (CH_2) e 7 sinais de carbonos metínicos (CH), onde se destaca o sinal do CH olefínico (C-4) em 123,6 ppm.

Estes dados espectrais estão todos coerentes com a estrutura do produto esperado, a colesta-4-en-3-ona.

V.3. OBTENÇÃO DA $5\beta(\text{H})$ -COLESTAN-3-ONA

A segunda etapa foi a hidrogenação da colesta-4-en-3-ona para obtenção da 3-colestanona. Essa foi uma etapa-chave para se atingir objetivo desejado, uma vez que a reação leva à formação de uma mistura das duas possíveis cetonas, com geometrias da junção dos anéis A/B (cis ou trans), resultantes da adição de H_2 , por um ou por outro lado da molécula do substrato. A proporção entre esses produtos altera de acordo com as condições de reação, ou seja, com a mudança de solvente, com a adição de ácido ou base e até mesmo com a variação de pressão.

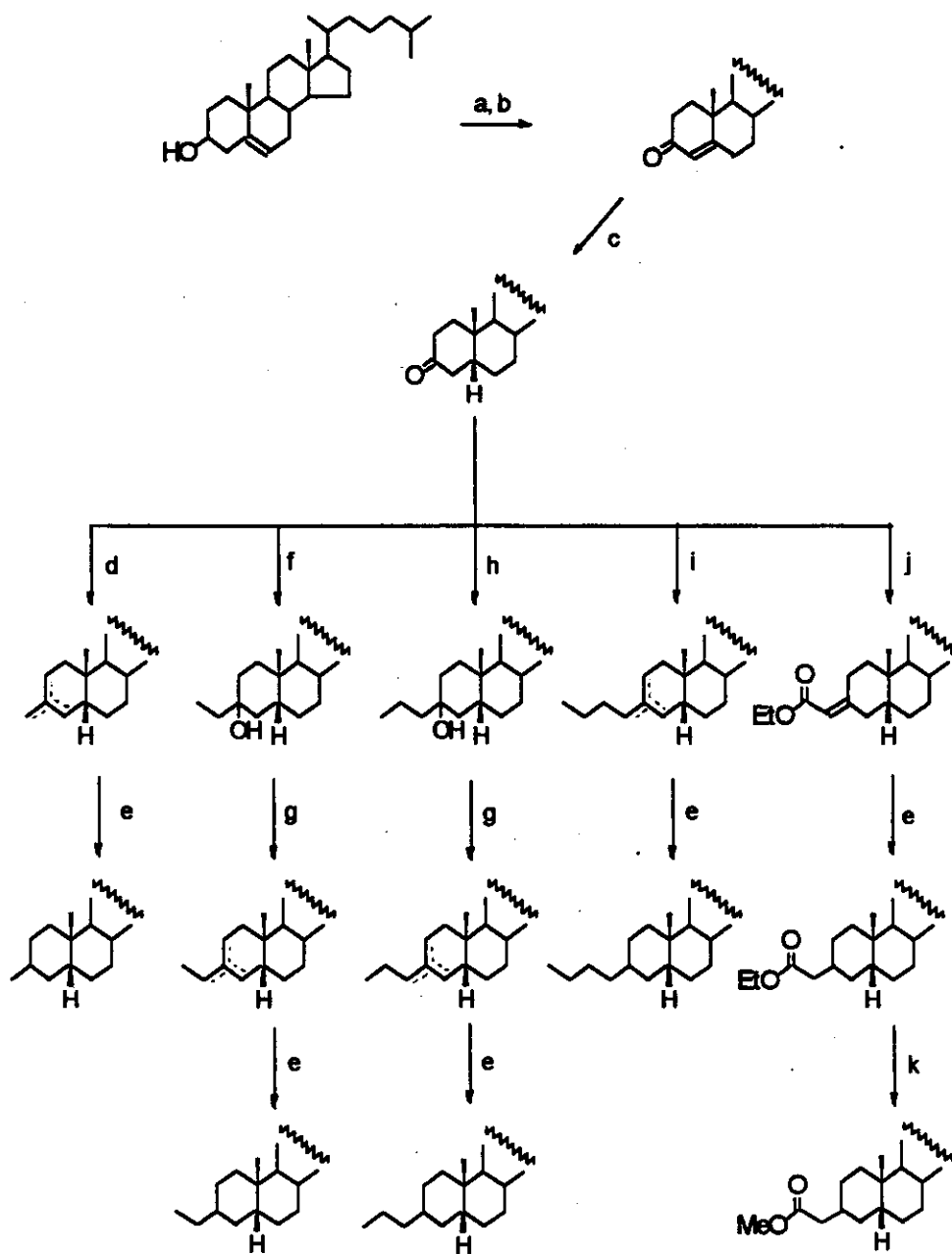
Como a cetona comercial com configuração 5α (junção A/B trans) estava disponível para ser utilizada como material de partida da série de

padrões 5α (segundo o esquema 2), passou a interessar a obtenção do outro diastereoisômero, ou seja a colestan-3-ona com configuração 5β (junção A/B cis).

Esta reação foi testada sob variadas condições até que, usando acetato de etila como solvente, paládio desativado por carbonato de sódio como catalisador e submetendo a mistura a uma pressão de 15 psi, durante 1 hora, conseguiu-se obter quase 100% de formação do produto com a geometria desejada (junção dos anéis A/B cis), a $5\beta(H)$ -colestan-3-ona. A análise por CG-EM do produto mostrou, no TIC, que a relação entre os picos correspondentes aos produtos cis e trans estava em torno de 99:1. Este produto foi então utilizado como "synthon" na preparação dos padrões da série 5β conforme mostramos no esquema 1.

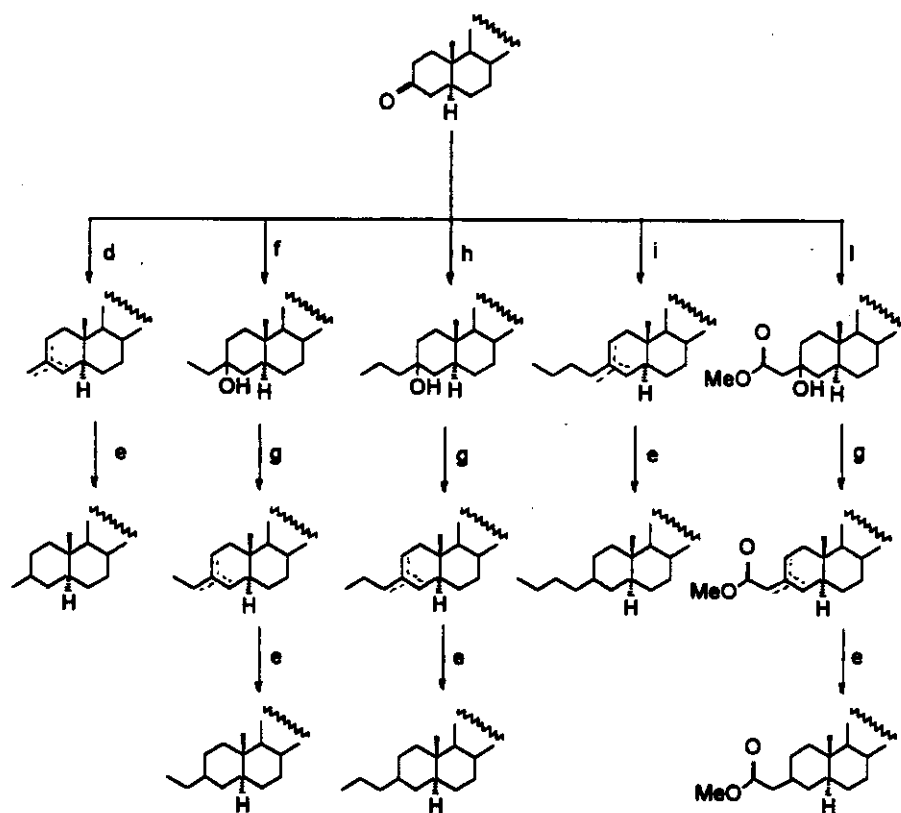
ESQUEMA 1

Rota sintética para preparação dos padrões da série 5 β (H)



ESQUEMA 2

Rota sintética para preparação dos padrões da série 5 α (H)



- a = CrO₃, H⁺ / acetona (*Jones*)
- b = KOH / MeOH 10%, Δ
- c = H₂, Pd / CaCO₃; AcOEt, 15 psi, 1h
- d = MeLi / THF
- e = H₂, Pd / C; EtOH, 40 psi, 6h
- f = EtBr, Mg / Et₂O (*Grignard*)
- g = CuSO₄ / tolueno, Δ
- h = n-PropBr, Mg / Et₂O (*Grignard*)
- i = BuLi / THF
- j = TEFA / K₂CO₃, H₂O (*Wittig-Homer*)
- k = DMAP / tolueno, Δ
- l = BrCH₂CO₂Me, Zn, I₂ / dioxano (*Reformatsky*)

V.4. CARACTERIZAÇÃO DA 5 β (H)-COLESTAN-3-ONA

No espectro no IV observam-se o deslocamento da banda de absorção característica da carbonila, antes α,β -insaturada, de 1670 para 1730 cm^{-1} e o desaparecimento do sinal referente ao estiramento C-H olefinico e no espectro de RMN de ^1H também se observa o desaparecimento do sinal correspondente ao próton olefinico que na cetona precursora aparecia em 5,7 ppm.

Os espectros de massas da cetona que preparamos [5 β (H)] e da cetona comercial [5 α (H)] apesar de apresentarem muitos íons comuns, são bem distintos no que diz respeito às abundâncias relativas destes íons, como pode ser visto na figura 51, a seguir.

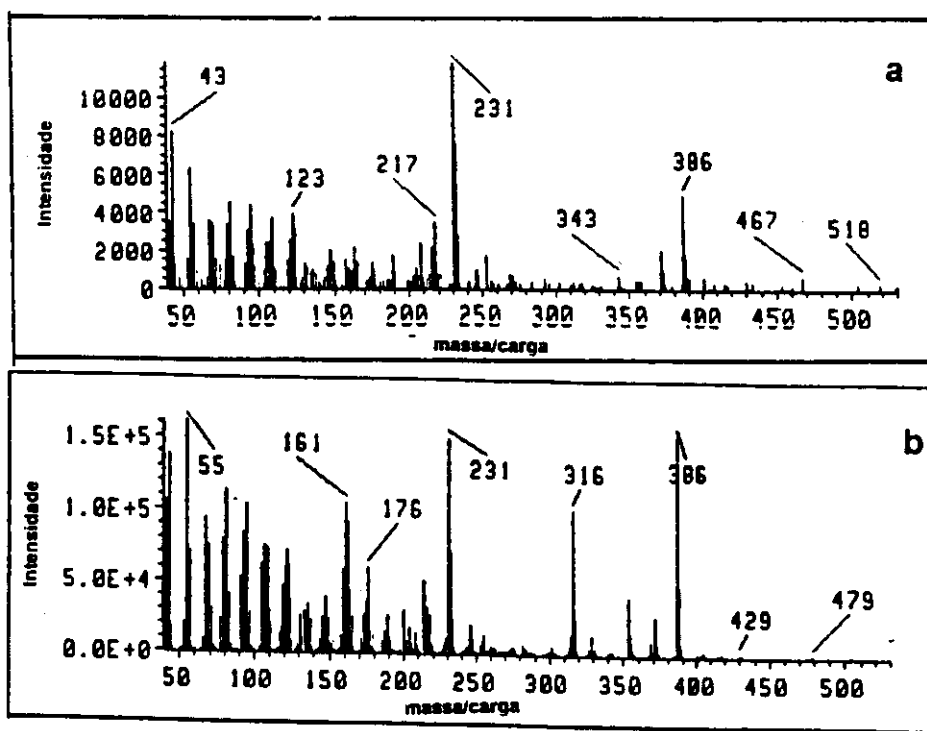


figura 51: espectros de massas de (a) 5 α (H)-colestan-3-ona e (b) 5 β (H)-colestan-3-ona

Há uma marcante diferença nesses espectros, que é bem notada, quando se compara as abundâncias relativas dos íons correspondentes a M^+ (m/z 386); à perda de metila (m/z 371); à perda do anel A com sua carbonila (fragmento BCD, m/z 316) e ao fragmento ABC (m/z 231). No espectro da 5 β -colestan-3-ona (junção A/B cis) o íon m/z 231 é bem intenso, mas o pico-base é o próprio íon molecular (m/z 386) e o íon correspondente

à perda do anel A (m/z 316) é mais intenso do que aquele correspondente a perda de metila (m/z 371). No espectro da 5α -colestano-3-ona (junção A/B trans) o íon molecular é intenso, mas o pico-base é o de m/z 231; o íon correspondente à perda de metila é mais intenso que na outra cetona e o íon correspondente à perda do anel A é negligenciável. Essas diferenças estão coerentes com a maior estabilidade esperada para os fragmentos que contêm o sistema de anéis A/B, na cetona com geometria trans na junção desses anéis.

As diferenças na estereoquímica desses compostos também pode ser percebida a partir da análise de seus espectros de RMN de ^{13}C , especialmente, com relação aos deslocamentos químicos dos carbonos C-7, C-9 e C-19. Os dois primeiros são deslocados para campo mais alto quando a geometria muda de trans para cis, com o C-7 passando de 31,7 para 26,7 ppm e o C-9 passando de 53,8 para 40,9 ppm; enquanto que o C-19 desloca para campo baixo, passando de 11,4 para 22,7 ppm. Estas alterações se devem, respectivamente, ao surgimento das interações γ -gauche C-7/C-4 e C-9/C-2, C-4 e à perda da interação γ -gauche C-19/C-2, C-4, ao passarmos da cetona com geometria A/B trans para A/B cis, como pode ser visto na figura 52, mostrada a seguir.

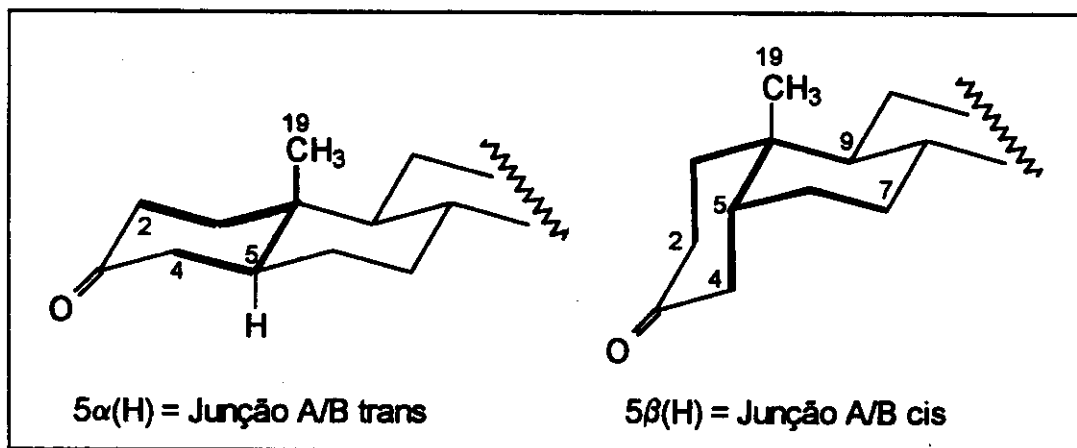


Figura 52: Interações γ -gauche (em negrito) dependentes da estereoquímica de C-5

Essa diferença nos deslocamentos químicos destes carbonos, em função da geometria da junção dos anéis A e B, são observadas de maneira geral nos esteroides, permitindo que cada um dos isômeros geométricos possa ser identificado, de forma inequívoca, a partir da análise de seus espectros de ^{13}C .

No espectro de RMN de ^{13}C observam-se ainda os sinais dos 27 carbonos, dentre os quais destacam-se as mudanças nos deslocamentos químicos dos carbonos: C-4 que passou de CH olefínico para CH_2 saturado, mudando de 123,6 para 44,8 ppm e tendo, agora, seu sinal invertido no DEPT-135 e C-5 que passou de carbono olefínico não hidrogenado para CH saturado, mudando de 171,0 para 46,7 ppm e tendo, agora, seu sinal registrado nos espectros DEPT-90 e DEPT-135 (sem inversão)

A obtenção da $5\beta(\text{H})$ -colestan-3-ona como produto majoritário da redução da cetona α,β -insaturada foi confirmada por outros dados espectroscópicos, além dos já comentados aqui.

As atribuições de cada sinal dos espectros de ^{13}C da colest-4-en-3-ona e da $5\beta(\text{H})$ -colestan-3-ona estão na tabela 18

V.5. PADRÕES DE HIDROCARBONETOS DA SÉRIE CIS [$5\beta(\text{H})$]

A série de padrões com configuração $5\beta(\text{H})$, ou seja, com geometria cis na junção dos anéis A e B, foi preparada a partir da $5\beta(\text{H})$ -colestan-3-ona preparamos.

Foram preparados os quatro 3α -álquil- $5\beta(\text{H})$ -colestanos (metil-, etil-, n-propil- e n-butil-) e o éster metílico do ácido $5\beta(\text{H})$ -colesta-3-il-acético.

O metil- e o n-butil- $5\beta(\text{H})$ -colestano foram preparados a partir da alquilação da $5\beta(\text{H})$ -colestan-3-ona com o respectivo álcool-lítio. Em ambos os casos o álcool obtido desidratou na manipulação da mistura reacional com cloreto de amônia, gerando uma mistura de olefinas que foram hidrogenadas, levando à formação do produto desejado, conforme descrito nas seções VII.3.3.1. e VII.3.3.4.

O etil- e o n-propil- $5\beta(\text{H})$ -colestano foram obtidos através da reação da $5\beta(\text{H})$ -colestan-3-ona com o reagente de Grignard preparado a partir do respectivo brometo de alquila. O álcool obtido em cada caso foi desidratado gerando uma mistura de olefinas que em seguida foi hidrogenada levando à formação do produto desejado, conforme está descrito nas seções VII.3.3.2. e VII.3.3.3.

As análises dos dados espectrais dos produtos obtidos nestas reações, comentados a seguir, confirmaram a obtenção dos respectivos 3α -álquil- $5\beta(\text{H})$ -colestanos.

Os espectros no IV desses compostos mostraram apenas as absorções características de hidrocarbonetos saturados, como por exemplo, as absorções devidas aos estiramentos de C-H alifáticos em torno de 1920 cm^{-1} e as absorções devidas às deformações assimétricas e simétricas destes mesmos C-H's, respectivamente, em torno de 1450 e 1380 cm^{-1} .

Os espectros de RMN de ^1H desses compostos são muito semelhantes e mostram um conjunto de multipletos de baixa intensidade na faixa de 2,0 a 1,0 ppm, relativos aos prótons metínicos e metilênicos e na faixa de 0,90 a 0,60 ppm os sinais atribuídos aos prótons metílicos. Dentre estes sinais, destacam-se os singletos em torno de 0,75 e 0,65 ppm referentes aos prótons metílicos de C-19 e C-18, respectivamente e os dubletos na região de 0,85 e 0,95 ppm relativos aos prótons metílicos de C-21 e C-26/C-27 que se sobrepõem a outros sinais.

O espectro de RMN de carbono-13, do 3α -metil- 5β (H)-colestano (CMC), mostrou sinais de 28 carbonos. Os dois sinais em 42,7 e 34,9 ppm ausentes no espectro DEPT referem-se aos carbonos quaternários C-13 e C-10, respectivamente. Os espectros DEPT-135 e DEPT-90 evidenciaram ainda os sinais de 6 carbonos de grupos metilas, 12 carbonos metilênicos (CH_2) e 8 carbonos metínicos (CH).

O espectro de RMN de carbono-13, do 3α -etil- 5β (H)-colestano (CEC) mostrou 29 sinais. Os dois sinais em 42,8 e 35,3 ppm, ausentes no espectro DEPT, referem-se, respectivamente, aos carbonos quaternários C-13 e C-10. Os espectros DEPT-135 e DEPT-90 evidenciaram ainda os sinais de 6 carbonos de grupos metilas, 13 carbonos metilênicos (CH_2) e 8 carbonos metínicos (CH).

O espectro de RMN de carbono-13 do 3α -n-propil- 5β (H)-colestano (CPC) mostrou os sinais dos 30 carbonos do composto. Os dois sinais em 42,8 e 35,3 ppm, ausentes no espectro DEPT, referem-se, respectivamente, aos carbonos quaternários C-13 e C-10. Os espectros DEPT-135 e DEPT-90 evidenciaram ainda os sinais de 6 carbonos de grupos metilas, 14 carbonos metilênicos (CH_2) e 8 carbonos metínicos (CH).

O espectro de RMN de carbono-13 do 3α -n-butil- 5β (H)-colestano (CBC) mostrou 30 sinais atribuídos aos 31 carbonos do composto. Os dois sinais em 42,8 e 35,3 ppm, ausentes no espectro DEPT, referem-se, respectivamente, aos carbonos quaternários C-13 e C-10. Os espectros DEPT-135 e DEPT-90 evidenciaram ainda os sinais de 6 carbonos de grupos metilas, 15 carbonos metilênicos (CH_2) e 8 carbonos metínicos (CH).

A tabela 19 mostra a atribuição de cada sinal ao respectivo carbono, para cada um destes compostos.

A análise dos espectros de ^{13}C destes compostos também permite inferir, com segurança, acerca da configuração do grupo R em C-3. Pode-se concluir que este grupo ocupa, nestes compostos, a posição α (equatorial), uma vez que eles não alteram significativamente os deslocamentos químicos de C-1 e C-5, quando comparado com o composto não alquilado, o que deveria ocorrer se este substituinte ocupasse uma posição axial já que, assim, iria gerar interações γ -gauche com C-1 e C-5, deslocando os sinais destes carbonos para campo mais alto. Estas interações podem ser visualizadas na figura 53, abaixo.

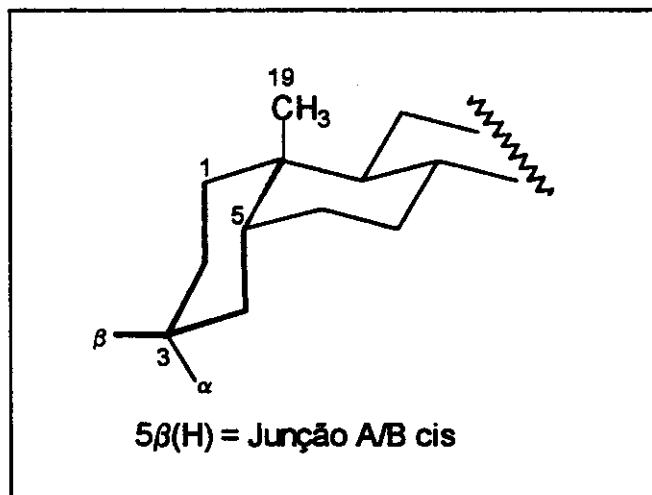


Figura 53: Interações γ -gauche (em negrito) dependentes da estereoquímica do substituinte no carbono 3 de 5 β (H) colestano

A posição α , que é equatorial, é também a posição mais favorecida termodinamicamente.

A análise dos espectros bidimensionais de correlação homo (COSY) e heteronuclear (HETCOR) corroboram estas atribuições, tanto dos espectros de ^1H como de ^{13}C

V.6. PADRÕES DE HIDROCARBONETOS DA SÉRIE TRANS [5 α (H)]

Os hidrocarbonetos da série trans foram preparados da mesma maneira que os respectivos isômeros da série cis, apenas substituindo o substrato, 5 β (H)-colestan-3-ona pela 5 α (H)-colestan-3-ona. As preparações estão descritas na seção VII.3.4. (pag. 119).

Os produtos obtidos nestas reações apresentaram espectros de IV semelhantes aos respectivos isômeros da série trans.

Os espectros de RMN de próton foram, também, semelhantes aos dos respectivos isômeros cis, mas apresentaram como importante característica, um significativo deslocamento para campo baixo, no sinal dos prótons da metila C-19, que passou de 0,75 ppm na série cis, para 0,92 ppm na série trans.

Os espectros de RMN de carbono-13 dos produtos da série trans mostraram 28 sinais para o 3-metil-5 α (H)-colestano (TMC), 29 sinais para o

3-etil-5 α (H)-colestano (TEC), 30 sinais para o 3-n-propil-5 α (H)-colestano (TPC) e 31 sinais para o 3-n-butil-5 α (H)-colestano (TBC).

Os sinais que apareceram no espectro total e não apareceram nos espectros DEPT-90 e DEPT-135 correspondentes, respectivamente, aos carbonos quaternários C-13 e C-10 desses compostos, foram registrados em:

42,7 e 36,0 ppm para o TMC;

42,7 e 36,2 ppm para o TEC;

42,7 e 36,2 ppm para o TPC e

42,7 e 36,2 ppm para o TBC.

Os espectros DEPT-135 e DEPT-90, evidenciaram ainda, os sinais de:

6 carbonos de grupos metilas, 12 carbonos metilênicos (CH₂) e 8 carbonos metínicos (CH) para o TMC;

6 carbonos de grupos metilas, 13 carbonos metilênicos (CH₂) e 8 carbonos metínicos (CH) para o TEC.

6 carbonos de grupos metilas, 14 carbonos metilênicos (CH₂) e 8 carbonos metínicos (CH) para o TPC.

6 carbonos de grupos metilas, 15 carbonos metilênicos (CH₂) e 8 carbonos metínicos (CH) para o TBC.

A análise dos espectros de ¹³C destes compostos, a exemplo do que ocorreu com os isômeros cis, também permite inferir, com segurança, acerca da configuração do grupo R em C-3. Pode-se concluir que este grupo ocupa, nestes compostos, a posição β (equatorial), uma vez que eles não alteram significativamente os deslocamentos químicos de C-1 e C-5, quando comparado com o composto não alquilado, o que deveria ocorrer se este substituinte ocupasse uma posição axial (α) já que, assim, iria gerar interações γ -gauche com C-1 e C-5, deslocando os sinais destes carbonos para campo mais alto. Estas interações podem ser visualizadas na figura 54, abaixo.

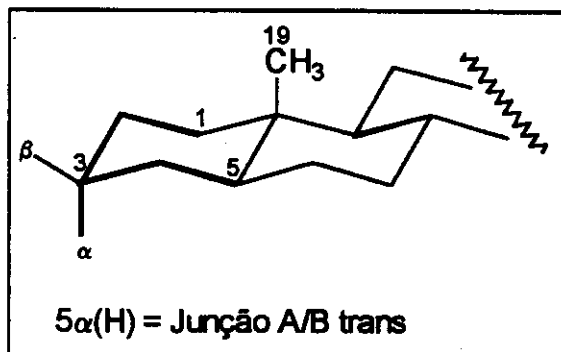


Figura 54: Interações γ -gauche (em negrito) dependentes da estereoquímica do substituinte no carbono 3 de 5 α (H) colestano

Mais uma vez, foi obtido o produto termodinamicamente mais estável. Essas atribuições estão coerentes com os espectros bidimensionais homonuclear próton/próton (COSY) e heteronuclear carbono-13/próton (HETCOR) e a atribuição de cada sinal consta na tabela 19.

V.7. DISCUSSÃO DOS ESPECTROS DE MASSAS DOS PADRÕES DAS SÉRIES CIS E TRANS

Nos espectros de massas desses compostos destacam-se como principais picos os que estão indicados na figura 55 e listados nas tabelas 16 e 17, apresentadas a seguir, e que correspondem:

- ao íon molecular (M^+),
- à perda de metila em C-10 ou C-13 ($M-15$),
- ao fragmento relativo aos anéis AB (fragmento AB),
- ao fragmento relativo aos anéis ABC (fragmento ABC) e
- ao fragmento relativo à perda do anel A (fragmento BCD).

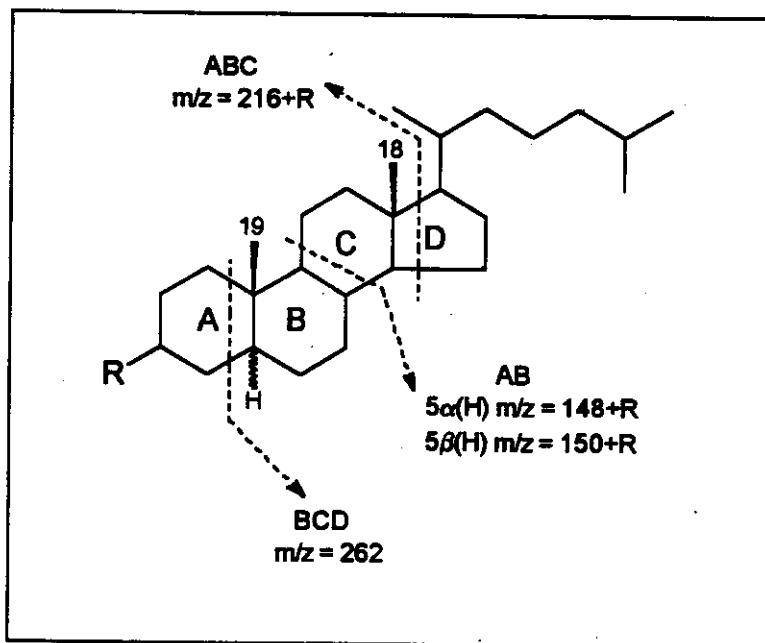


Figura 55: Fragmentos de 3-álquil $5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$ -esteranos

TABELA 16 - Massas e abundâncias relativas (entre parênteses) dos principais íons presentes nos espectros de massas dos 3 β -álquil-5 α (H)-colestanos

ÍON	ALQUIL	METIL	ETIL	n-PROPIL	n-BUTIL
M+		386 (30,6)	400 (19,6)	414 (47,4)	428 (33,2)
M-15		371 (37,8)	385 (54,0)	399 (59,9)	413 (51,9)
AB		163 (32,3)	177 (32,1)	191 (32,5)	205 (27,0)
ABC		231 (100)	245 (100)	259 (100)	273 (100)
BCD		262 (11,2)	262 (16,6)	262 (17,1)	262 (15,2)

TABELA 17 - Massas e abundâncias relativas (entre parênteses) dos principais íons presentes nos espectros de massas dos 3 α -álquil-5 β (H)-colestanos

ÍON	ALQUIL	METIL	ETIL	n-PROPIL	n-BUTIL
M+		386 (36,4)	400 (40,9)	414 (57,4)	428 (30,5)
M-15		371 (45,1)	385 (80,7)	399 (100)	413 (76,9)
AB		165 (41,6)	179 (18,3)	193 (11,7)	207 (22,7)
ABC		231 (100)	245 (100)	259 (66,3)	273 (100)
BCD		262 (5,0)	262 (6,0)	262 (6,0)	262 (5,0)

Desses fragmentos, o que corresponde aos anéis AB, aqui denominado fragmento AB, é de importância fundamental na interpretação dos espectros de massas desses compostos, pois, como é citado na literatura (Peters e Moldowan, 1993) e como foi confirmado nos espectros dos padrões, ele pode apresentar dois diferentes valores de m/z, dependendo do caminho de fragmentação e suas abundâncias relativas são dependentes da geometria da junção dos anéis A/B. No caso da geometria cis (configuração 5 β (H)) o fragmento com m/z 150+R é mais abundante e no caso da geometria trans o fragmento mais abundante é aquele com m/z 148+R. Um esquema de fragmentação que leva à formação do íon com m/z 148+R (Budzikiewicz et al., 1964), característico de esteranos com junção A/B TRANS, isto é, com configuração 5 α (H), é apresentado na figura 56.

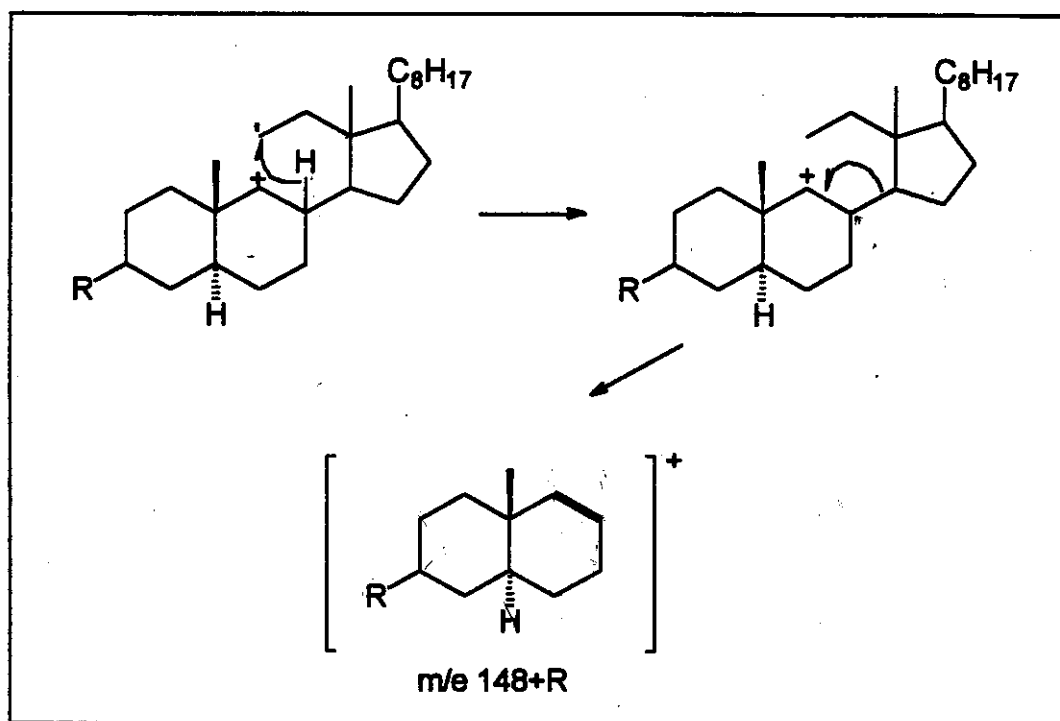


Figura 56: Esquema de fragmentação de alquil esteranos, levando à formação do íon m/z 148+R

O caminho de fragmentação que leva à formação do íon com $m/z = (150 + R)$, mais abundante em relação ao íon $m/z = (148 + R)$ nos 3-álquil esteranos com estereoquímica $5\beta(H)$, foi proposto por Tökés e Amos (1972) e está mostrado na figura 57.

A razão entre as abundâncias relativas de M^+ e $M-15$ [$M^+/(M-15)$] nos espectros de massas de todos os 3-álquilcolestanos preparados no presente trabalho, independente da geometria na junção dos anéis A e B, é sempre menor que 1 o que contrasta com os espectros dos 4-álquilcolestanos encontrados na literatura, onde essa mesma relação é sempre maior que 1. No entanto, há uma significativa diferença na abundância do íon $M-15$, quando comparamos as séries cis e trans dos 3-álquilcolestanos: o íon $M-15$ é sempre mais abundante no isômero cis que no trans, chegando ao ponto de, no 3-etil- $5\beta(H)$ -colestano, o pico correspondente a este íon ser o pico-base. Essas diferenças entre as abundâncias deste íon nas duas séries está coerente com dados da literatura (Zaretskii, 1975) que relatam a menor estabilidade do sistema cis e a conseqüente maior facilidade destes isômeros em perder um radical metila.

Portanto, as relações entre as abundâncias relativas dos íons $148+R$ e $150+R$, provenientes dos dois possíveis fragmentos AB, e entre os íons M^+ e $M-15$, são dois dados que se complementam, e que são importantes para a identificação da geometria da junção dos anéis A/B dos alkil esteranos, a partir da interpretação de seus espectros de massas.

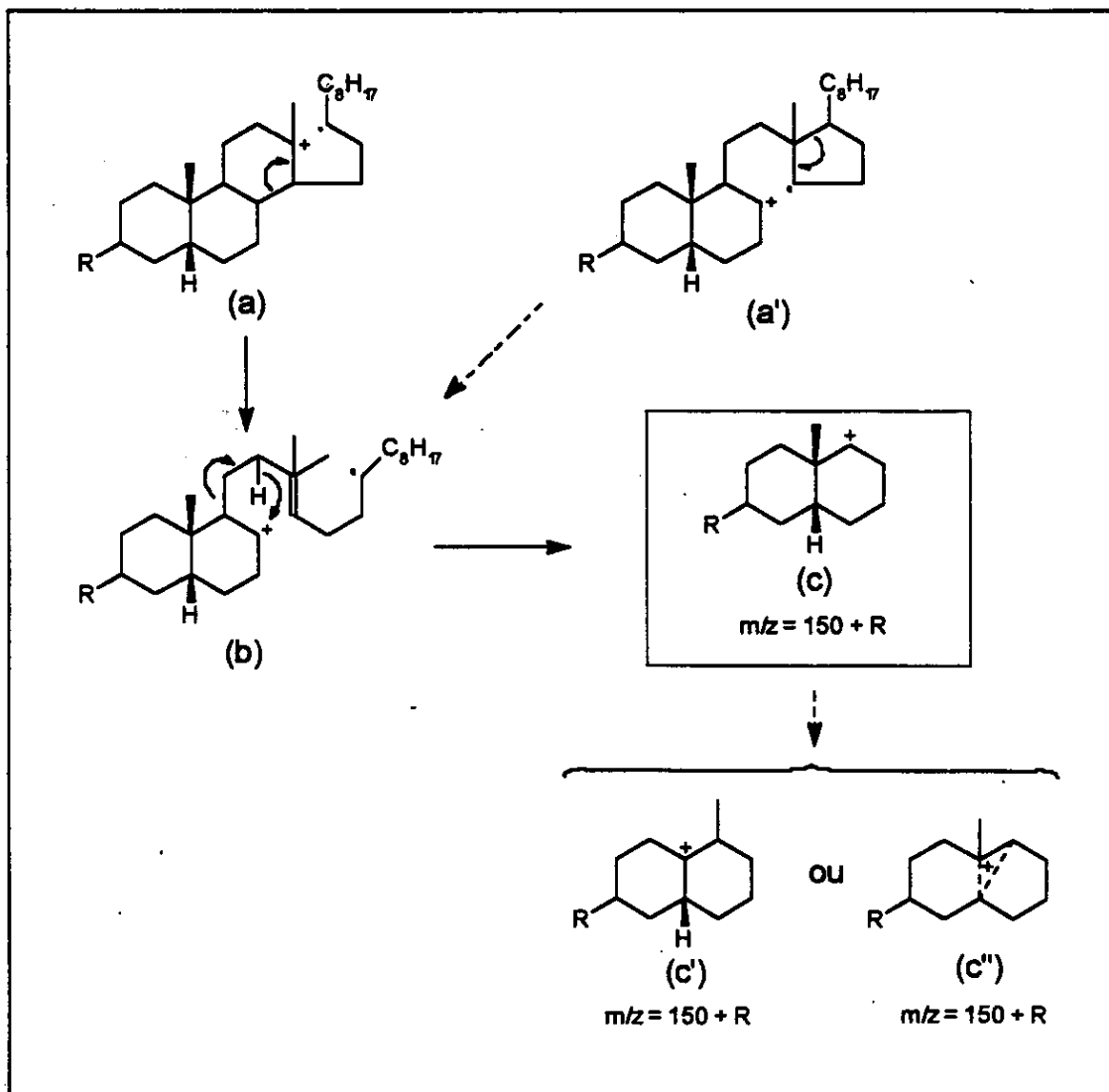


Figura 57: Esquema de fragmentação de alkil esteranos, levando à formação do íon $m/z 150+R$

V.8. PADRÕES DE ÉSTERES

V.8. 1. 5 α (H)-Colesta-3 β -il-Acetato de Metila

Este composto foi preparado a partir da reação de Reformatsky da 5 α (H)-colestano-3-ona com o organo-zinco derivado do α -bromoacetato de etila, seguida da desidratação do β -hidroxiéster obtido e hidrogenação da mistura de olefinas, conforme descrito na seção VII.3.4.5. (pag. 123)

A análise dos espectros de massas, IV e RMN de ^1H e ^{13}C do produto, confirmou a obtenção do composto desejado. No espectro de infravermelho destacam-se a forte absorção em 1740 cm^{-1} , característica do estiramento de carbonila de éster e em 1150 cm^{-1} característico do estiramento da ligação C-O.

Os espectro de massas mostrou como principais picos aqueles correspondentes aos íons: m/z 444 (M+, 29%); 429 (M-15, 31%); 289 (fragmento AB, 100%) e 221(43%).

O espectro de RMN de próton evidenciou a formação do produto por mostrar um singlete em 3,66 ppm integrando 3 prótons, atribuídos aos prótons metoxílicos e um dubleto em 2,12 ppm, com constante de acoplamento de 7,0 Hz e integração equivalente a 2 prótons, atribuídos aos prótons metilênicos α a carbonila do éster. Na faixa de 2,0 a 1,0 ppm o espectro mostrou vários multipletos atribuídos aos demais prótons metilênicos e metínicos do composto. Os prótons dos grupos metilas absorveram na faixa de 0,92 a 0,60 ppm.

O espectro de RMN de carbono-13 mostrou os sinais dos 30 átomos de carbono do composto.

Os carbonos não hidrogenados, cujos sinais não aparecem nos DEPT-135 e DEPT-90, absorveram em 35,8; 42,7 e 173,9 ppm, sendo este último atribuído ao carbono carbonílico.

Os espectros DEPT-135 e DEPT-90 mostraram ainda, os sinais de 6 carbonos dos grupos metilas, onde destacamos o sinal da metila ligado ao oxigênio, em 51,4 ppm; os sinais de 13 carbonos metilênicos e os sinais de 8 carbonos metínicos.

Os sinais em 12,3; 32,1 e 54,6 ppm, atribuídos, respectivamente, aos carbonos C-19, C-7 e C-9 apresentam valores de deslocamento químico característicos de compostos com junção de anéis A/B trans, ou seja, configuração 5 α (H). A não alteração significativa dos deslocamentos químicos de C-1 e C-5, comparados com os dos respectivos carbonos no colestano não substituído, evidenciam a formação do composto com configuração 3 α (H).

V.8. 2. 5 β (H)-Colesta-3 β -il-Acetato de Metila

A preparação deste composto foi tentada, inicialmente, através da reação de Reformatsky usando a cetona apropriada como substrato; no entanto, ao contrário do que ocorreu na preparação do éster "trans", não obtivemos sucesso. Tentamos então, e conseguimos êxito, com a reação de Wittig-Horner, utilizando a 5 β (H)-colestano-3-ona e o trietilfosfonoacetato de etila, seguido de hidrogenação do éster insaturado e transesterificação, conforme descrito na seção VII.3.3.5. (pag. 118).

A análise dos espectros de massas, IV e RMN de ^1H e ^{13}C do produto, confirmou a obtenção do composto desejado. No espectro de infravermelho destacamos a forte absorção em 1729 cm^{-1} , característica do estiramento de carbonila de éster e em 1150 cm^{-1} característico do estiramento da ligação C-O.

Os espectros de massas, RMN de próton e RMN de carbono-13 foram semelhantes aos do isômero 5 α (H), diferenciando-se apenas nos sinais característicos de cada uma das séries (a e b), conforme já foi discutido para os hidrocarbonetos. A descrição dos sinais destes espectros se encontra na seção VII.3.3.5. (pag. 118) e atribuição de cada sinal do espectro de carbono-13 se encontra na tabela 18 apresentada em seguida.

V.9. CONCLUSÕES:

As rotas sintéticas utilizadas no presente trabalho para a preparação dos padrões envolveram reações clássicas; no entanto, foram de extrema importância, pois permitiram a obtenção de oito biomarcadores, e de dois correspondentes ésteres, desta nova classe de biomarcadores detectada em nossos óleos, os 3-álquil e 3-carboxialquil esteranos.

Estas sínteses permitiram o conhecimento dos padrões de fragmentação em espectrometria de massas dos compostos das duas séries de diastereoisômeros ($5\alpha(H)$ e $5\beta(H)$), possibilitando assim uma maior confiabilidade nas identificações dos compostos por nós detectados e a confirmação de suas ocorrências, por co-injeção, quer na fração neutra, quer na fração de hidrocarbonetos derivados dos ácidos

Além disso, seis destes padrões, listados a seguir, são compostos inéditos, cujas sínteses ainda não foram relatadas na literatura:

- 3 α -metil-5 $\beta(H)$ -colestano
- 3 α -etil-5 $\beta(H)$ -colestano
- 3 α -n-propil-5 $\beta(H)$ -colestano
- 3 α -n-butil-5 $\beta(H)$ -colestano
- 3 β -n-propil-5 $\alpha(H)$ -colestano
- 3 β -n-butil-5 $\alpha(H)$ -colestano

TABELA 18: Deslocamentos Químicos (δ , em ppm) de ^{13}C de Colesta-4-en-3-ona e CIS e TRANS Colestan-3-onas e [Colesta-3 α -il]-Acetatos de Metila

C No.	COMPOSTOS						
	I	I ^(a)	II	II ^(a)	III	IV	V
01	37,2	37,2	38,5	38,5	35,7	37,5	38,4
02	37,1	37,1	38,1	38,1	33,9	28,4	28,6
03	212,7	212,7	211,2	211,2	198,9	36,1	35,4
04	42,4	42,4	44,6	44,6	123,6	34,2	35,3
05	44,4	44,4	46,7	46,7	171,0	43,2	46,4
06	25,8	25,8	29,0	29,0	32,9	27,5	28,9
07	26,7	26,7	31,7	31,7	32,1	26,5	32,1
08	35,6	35,6	35,4	35,4	35,7	36,0	35,6
09	40,9	40,9	53,8	53,8	53,8	40,6	54,6
10	34,9	34,9	35,6	35,6	38,6	35,2	35,8
11	21,3	20,9	20,9	21,4	21,0	20,9	21,0
12	40,1	40,4	40,2	39,9	39,4	40,2	40,1
13	42,8	42,7	42,6	42,5	42,4	42,7	42,7
14	56,5	56,7	56,7	56,2	55,9	56,7	56,6
15	24,2	24,3	24,2	24,2	24,1	24,3	24,2
16	28,3	28,3	28,3	28,2	28,1	28,3	28,3
17	56,4	56,4	56,4	56,2	56,1	56,4	56,4
18	12,1	12,1	12,1	12,1	12,0	12,1	12,1
19	22,7	24,3	12,3	11,4	17,4	24,3	12,3
20	35,8	35,8	35,8	35,7	35,7	35,9	35,9
21	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7
22	36,2	36,2	36,3	36,1	36,1	36,2	36,2
23	23,9	23,9	23,9	23,8	23,8	23,9	23,9
24	39,5	39,5	39,5	39,5	39,6	39,6	39,6
25	28,0	28,0	28,0	28,0	27,9	28,1	28,1
26	22,5	22,5	22,6	22,5	22,5	22,6	22,6
27	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,9
28						42,0	42,0
C=O						173,8	173,9
OCH ₃						51,4	51,4

- I** = 5 β -Colestan-3-ona (CIS)
II = 5 α -Colestan-3-ona (TRANS)
III = Colest-4-en-3-ona
IV = [5 β (H)-Colesta-3 α -il]-Acetato de Metila
V = [5 α (H)-Colesta-3 β -il]-Acetato de Metila
(a) = Dados da literatura^r

TABELA 19: Deslocamentos Químicos (δ , em ppm) de ^{13}C de e CIS e TRANS Colestanos^(a) e 3-Alquil-Colestanos

CARBONO No.	COMPOSTOS									
	CH ^(a)	TH ^(a)	CM	TM	CE	TE	CP	TP	CB	TB
01	37,7	38,7	37,5	38,8	37,5	38,8	37,5	38,8	37,5	38,8
02	21,4	22,2	29,7	29,0	27,6	29,2	28,1	29,0	28,0	29,1
03	27,1	26,9	33,6	33,2	40,4	40,0	40,0	39,9	38,5	38,1
04	27,3	29,1	36,2	37,9	33,8	35,5	34,2	35,9	34,2	35,9
05	43,8	47,1	43,6	46,8	43,6	46,8	43,6	46,8	43,6	46,8
06	27,6	29,1	27,5	31,0	27,6	30,1	27,6	29,1	27,6	29,1
07	26,6	32,3	26,6	32,2	26,6	32,3	26,6	32,3	26,6	32,3
08	36,0	35,6	36,0	35,6	36,2	35,7	36,0	35,6	36,0	35,6
09	40,6	54,9	40,6	54,7	40,6	54,9	40,6	54,8	40,6	54,8
10	35,4	36,3	34,9	35,8	35,3	36,2	35,3	36,2	35,2	36,2
11	20,9	20,9	20,9	21,1	20,9	21,1	20,9	21,1	20,9	21,1
12	40,4	40,2	40,3	40,2	40,4	40,2	40,4	40,2	40,3	40,2
13	42,7	42,6	42,7	42,6	42,8	42,7	42,8	42,7	42,7	42,7
14	56,7	56,7	56,7	56,6	56,7	56,7	56,7	56,7	56,7	56,7
15	24,3	24,2	24,3	24,2	24,3	24,3	24,3	24,3	24,3	24,3
16	28,3	28,3	28,4	28,3	28,4	28,3	28,4	28,3	28,3	28,3
17	56,4	56,4	56,4	56,4	56,4	56,5	56,4	56,4	56,4	56,4
18	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	12,0	12,1
19	24,3	12,3	24,0	12,3	24,1	12,4	24,1	12,4	24,1	12,4
20	35,8	35,8	35,8	35,8	35,9	35,9	35,8	35,9	35,8	35,9
21	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7	18,7
22	36,2	36,3	36,2	36,2	35,8	36,3	36,2	36,2	36,2	36,2
23	23,9	23,9	23,8	23,9	23,8	23,9	23,8	23,9	23,8	23,9
24	39,5	39,5	39,6	39,6	39,6	39,6	39,6	39,6	39,6	39,6
25	28,0	28,0	28,0	28,0	28,1	28,1	28,0	28,0	28,0	28,0
26	22,5	22,6	22,6	22,7	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6
27	22,8	22,8	22,8	22,8	22,8	22,9	22,8	22,8	22,8	22,8
28	-	-	22,8	22,6	30,2	28,7	38,3	37,8	37,3	37,3
29	-	-	-	-	11,6	11,5	20,0	20,0	29,2	29,3
30	-	-	-	-	-	-	14,4	14,4	23,0	23,1
31	-	-	-	-	-	-	-	-	14,1	14,2

- CH** = 5 β (H)-Colestano
TH = 5 α (H)-Colestano
CM = 3 α -Metil-5 β (H)-Colestano
TM = 3 β -Metil-5 α (H)-Colestano
CE = 3 α -Etil-5 β (H)-Colestano
TE = 3 β -Etil-5 α (H)-Colestano
CP = 3 α -n-Propil-5 β (H)-Colestano
TP = 3 β -n-Propil-5 α (H)-Colestano
CB = 3 α -n-Butil-5 β (H)-Colestano
TB = 3 β -n-Butil-5 α (H)-Colestano
(a) = Dados da Literatura

VI. CONCLUSÃO GERAL

VI. CONCLUSÃO GERAL

Dentre os resultados obtidos no presente trabalho, abordados com maiores detalhes nas discussões e conclusões dos capítulos III, IV e V, destacam-se por seu especial significado:

1. A contribuição ao melhor conhecimento da gênese dos óleos do Campo de Fazenda Belem, como por exemplo, a importância do "input" de vegetais superiores na formação dos sedimentos que deram origem aos óleos estudados e a constatação de um estágio de biodegradação não tão pesado quanto o indicado a partir da análise, apenas da fração neutra.

2. A contribuição ao estudo dos biomarcadores da classe dos esteranos, pois, este trabalho, proporcionou:

(i) a descoberta, simultânea com Dahl e colaboradores, da série dos 3β -alquil 5α (H)-esteranos;

(ii) o primeiro registro - que ainda continua inédito - da série dos isômeros com configuração 5β (H) e

(iii) o primeiro registro da ocorrência dos respectivos derivados ácidos 5α (H) e 5β (H) em petróleo.

3. As sínteses da série de biomarcadores 5α (H) e 5β (H) colestanos, que permitiram a ratificação das identificações que, inicialmente, foram propostos aos compostos detectados e que se baseavam, principalmente, na interpretação de seus espectros de massas e na comparação com dados da literatura.

O resultado deste e de outros trabalhos do grupo de Geoquímica Orgânica da UNICAMP, juntamente com dados da literatura, fornecem suficiente embasamento para afirmar que a análise de biomarcadores neutros não são, por si só, suficientes para definir parâmetros como maturação, migração secundária e sobretudo biodegradação. Os compostos ácidos tomam-se instrumentos fundamentais e refinados nessas avaliações. Esse trabalho, em particular, evidencia a importância dos biomarcadores ácidos na aviação do estágio de biodegradação das amostras estudadas.

Por sua vez, a ocorrência das séries de biomarcadores, neutros e ácidos, da classe dos esteranos com substituinte no carbono 3, associado aos dados da literatura sobre compostos desta mesma classe e a detecção de outros compostos, inclusive aromáticos, em trabalhos desenvolvidos pelo grupo de Geoquímica Orgânica da UNICAMP, nos fazem acreditar que estamos diante de uma nova família de compostos, os GEOESTERANOS. Tais compostos adquirem, pelo seu elevado número e diversidade estrutural, uma grande importância que requer estudos mais aprofundados, inclusive de paleoambiente, para podermos entender o seu papel e esclarecer melhor sua origem, se fruto de atividade bacteriana, agregando uma molécula de açúcar na posição 3 dos esteróides ou tratarem-se de produtos naturais de origem ainda não identificada.

VII. EXPERIMENTAL

VII. EXPERIMENTAL

VII.1. EQUIPAMENTOS, REAGENTES E SOLVENTES

A seguir são descritos os equipamentos reagentes e solventes utilizados em nosso trabalho experimental

VII.1.1. EQUIPAMENTOS

VII.1.1.1. Cromatografia gasosa (CG)

As análises por cromatografia gasosa foram realizadas em um aparelho HP 5890, com injetor split/splitless, detetor de ionização de chama (DIC) e equipado com coluna capilar DB-5, de dimensões 30m x 0,25mm, tendo como fase estacionária 5% fenil metil silicone. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio.

As programações de temperatura utilizadas, foram:

a) Para hidrocarbonetos:

injetor a 280°C;

coluna a temperatura inicial de 40°C, mantida por 0,89 min, seguida de elevação de temperatura a 4°C/min até atingir 300°C e, finalmente, mantida a essa temperatura por 15 min;

detetor a 320°C.

b) Para ésteres:

injetor a 320°C;

coluna a temperatura inicial de 80°C, mantida por 0,89 min, seguida de elevação de temperatura a 4°C/min até atingir 320°C e, finalmente, mantida a essa temperatura por 15 min;

detetor a 320°C

VII.1.1.2. Cromatografia gasosa - espectrometria de massas (CG-EM)

As análises por CG-EM foram realizadas em um cromatógrafo HP 5890II, acoplado com um detetor de massas HP 5970-MSD.

O cromatógrafo estava equipado com um injetor tipo split/splitless e com uma coluna capilar do tipo Ultra 2, de dimensões 30m x 0,25mm e cuja fase fixa consiste de 5% fenil metil silicone. O gás de arraste utilizado foi o hélio. Também foram utilizadas duas diferentes programações de temperaturas: uma para as análises de hidrocarbonetos e outra para as análises dos ésteres.

Programação de temperaturas para os hidrocarbonetos:

injetor a 280°C;

coluna a temperatura inicial de 70°C, mantida por 0,89 min, seguida de elevação de temperatura a 4°C/min até atingir 300°C e, finalmente, mantida a essa temperatura por 15 min;

interface a

Programação de temperaturas para os ésteres:

injetor a;

coluna a temperatura inicial de 80°C, mantida por 0,89 min, seguida de elevação de temperatura a 4°C/min até atingir 320°C e, finalmente, mantida a essa temperatura por 15 min;

interface a

O detector de massas utilizava em sua câmara de ionização o sistema de ionização por impacto de elétrons com energia de 70 eV.

As análises foram realizadas, utilizando dois diferentes modos e aquisição de dados: o modo SCAN e o modo SIM, descritos na seção II:2.

VII.1.1.3. Espectrometria no infravermelho (IV)

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos em um espectrômetro Perkin-Elmer, modelo 1600 com transformada de Fourier (FTIR), utilizando filmes sobre cela de KBr e tendo como referência a absorção em 1601 cm^{-1} , de um filme de poliestireno.

VII.1.1.4. Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN¹H) e de carbono-13 (RMN¹³C) foram obtidos nos aparelhos Varian XL-100 (100 MHz para ¹H e 25,2 MHz para ¹³C) e Varian Gemini 300 (300 MHz para ¹H e 75,1 MHz para ¹³C), utilizando clorofórmio deuterado (CDCl₃) como solvente e como padrão de referência interna o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos (δ) são indicados em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

VII.1.1.5. Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises por CCD foram realizadas em camada de sílica gel G misturada com PF₂₅₄ na proporção de 1:1 (espessura 0,25 mm), suportada em placa de vidro de 5 x 20 cm. Em cada experimento foi utilizado o eluente apropriado e a revelação final foi feita por irradiação com luz ultravioleta (254 nm) e/ou por pulverização com solução de ácido sulfúrico concentrado : metanol (1:1) ou solução de ácido acético glacial : ácido sulfúrico concentrado : p-anisaldeído (50,0:1,0:0,5) seguida de carbonização em chapa de aquecimento.

VII.1.1.6. Cromatografia em camada preparativa (CCP)

As separações por cromatografia em camada preparativa foram realizadas em camada de sílica-gel PF₂₅₄, pura ou impregnada com nitrato

de prata (12,5%), de 0,5 mm de espessura, suportada em placa de vidro 20 x 20 cm. Aplicava-se um máximo de 100 mg de amostra por placa e em cada experimento foi utilizado o eluente adequado. A visualização final das "faixas" foi feita por irradiação com luz ultravioleta (254 nm) e em seguida a faixa ou faixas selecionadas eram extraídas com o solvente adequado.

VII.1.1.7. Cromatografia em coluna

As separações por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando sílica-gel 60 Merck como fase fixa. A proporção amostra/sílica, o eluente ou eluentes utilizados e o volume da alíquota recolhida, variavam de acordo com o experimento.

VII.1.2. REAGENTES E SOLVENTES

Os reagentes utilizados como material de partida nas reações foram produtos comerciais da Merck, Sigma ou Aldrich.

Os solventes utilizados em geral, foram, de acordo com as necessidades, tratados e destilados segundo as técnicas descritas por Perrin e col. (1986).

VII. EXPERIMENTAL

VII.2. PARTE 2: Obtenção e derivatização das amostras de petróleo

As amostras de petróleo foram tratadas, conforme o método citado por Trifiliat (1987) e segundo os fluxogramas 1, 2 e 3, mostrados na seção II.2. e que serão aqui comentados.

VII.1.1. Obtenção da fração HAL (hidrocarbonetos alifáticos)

A fração de hidrocarbonetos alifáticos (HAL) foi obtida segundo o fluxograma 1, mostrado na seção II.2.

Uma amostra de cerca de 200 mg de óleo, dissolvida num volume mínimo de hexano, foi aplicada no topo de uma coluna cromatográfica, de 1,8 cm de diâmetro interno, contendo 20g de sílica-gel e, provida de uma camada de cobre coloidal, de cerca de 1 cm de altura, em sua parte inferior. A coluna foi eluída seqüencialmente com os seguintes eluentes:

E1: 60 mL de hexano, que eluiu os constituintes alifáticos, fração F1;

E2: 60 mL de uma mistura, na proporção 3/2, de hexano/tolueno, que eluiu os constituintes aromáticos, fração F2, e

E3: 60 mL de uma mistura, na proporção 3/2, de tolueno/metanol, que eluiu os constituintes mais polares, fração F3.

A fração F1 foi, então, chamada de fração HAL: fração de Hidrocarbonetos alifáticos. As frações F2 e F3 não foram objeto de estudo neste trabalho:

Abaixo apresentamos a tabela 20, contendo as massas das frações de cada um dos óleos estudados, após eliminação do solvente,

Tabela 20: Massas das frações obtidas após cromatografia em coluna de cada uma das amostras de óleo

óleo	amostra (mg)	F1 (mg)	F2 (mg)	F3 (mg)
A	200,0	77,0	53,4	39,0
B	225,0	80,9	56,1	46,0
C	208,2	63,6	51,6	43,2
D	207,4	75,9	48,6	59,2

VII.1.2. Obtenção da fração NAF (ácidos naftênicos).

A fração de ácidos naftênicos (NAF) foi obtida segundo o fluxograma 2, mostrado na seção II.2., que corresponde à metodologia descrita por McCarthy e Duthie (1962).

Uma amostra de cerca de 80g de óleo foi aplicada em uma coluna cromatográfica com reciclagem de solvente (figura 58), contendo sílica-gel (60 Merck, 63-200 μ n) modificada com hidróxido de potássio, conforme descrito a seguir: 25 g de KOH e 400 mL de isopropanol foram agitados à 50

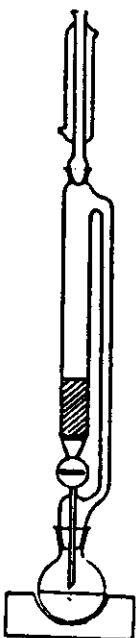


figura 58: coluna cromatográfica com reciclagem de solvente

50°C, até completa dissolução do hidróxido de potássio e em seguida adicionados a 200 g de sílica-gel, previamente ativada à 400°C. Após a homogeneização a mistura foi deixada em repouso por 1 hora e posteriormente transferida para a coluna cromatográfica. Os excessos de KOH e isopropanol foram lavados abundantemente com éter etílico seco e então, cerca de 80 g de óleo, dissolvidos no menor volume possível de éter etílico, foram aplicados no topo da coluna. A fração neutra foi eluída, continuamente, com 1000 mL de éter etílico seco, mantido sob refluxo por cerca de 6 horas. Esta fração não foi objeto de estudo deste trabalho. Em seguida a coluna foi eluída, também continuamente, com 1000 mL de uma solução de ácido fórmico, a 20%, em éter etílico, mantido sob refluxo por cerca de seis horas. Esta fração foi chamada de NAF: fração de ácidos

naftênicos. Ela foi analisada por infravermelho, quando observamos as bandas em 1707 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido e em 3427 cm^{-1} , característica da hidroxila do ácido (figura 59).

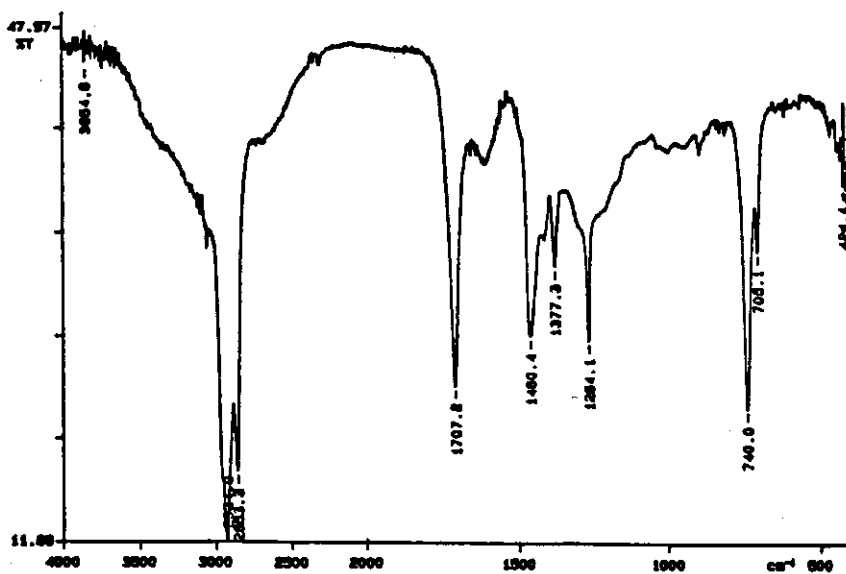


figura 59: espectro de infravermelho da fração ácida do óleo A

Tabela 21: Massa das frações ácidas obtidas a partir das amostras de óleo, após cromatografia em coluna de sílica-gel impregnada com KOH.

óleo	amostra (g)	fração ácida (mg)
A	81,4	919,8
B	81,0	863,5
C	80,0	2003,2
D	80,7	902,5

VII.1.3. Obtenção das frações EMA, HHA e HDA

Estas frações foram obtidas por derivatização da fração NAF, conforme fluxograma 3, mostrado na seção II.2.

VII.1.3.1. Esterificação dos ácidos

A fração NAF, obtida conforme comentado na seção VII.1.2. foi inicialmente submetida à reação de esterificação com diazometano (Black, 1983): cerca de 500 mg da fração NAF foram dissolvidas em 20 mL de éter etílico e em seguida uma solução etérea de diazometano foi adicionada, gota a gota, sob refrigeração em banho de gelo, até que não se observasse mais a liberação de gases. A mistura foi deixada em repouso por duas horas e em seguida adicionou-se, cuidadosamente, uma nova porção da solução etérea de diazometano, igual a metade do volume anteriormente gasto e a mistura foi deixada em repouso por toda a noite. Posteriormente o éter foi evaporado e o resíduo, denominado ésteres totais foi analisado por infravermelho, quando observou-se em seu espectro o deslocamento da banda correspondente à carbonila, de 1707 para 1734 cm^{-1} , e o desaparecimento da banda correspondente à hidroxila do ácido, em 3427 cm^{-1} (figura 60).

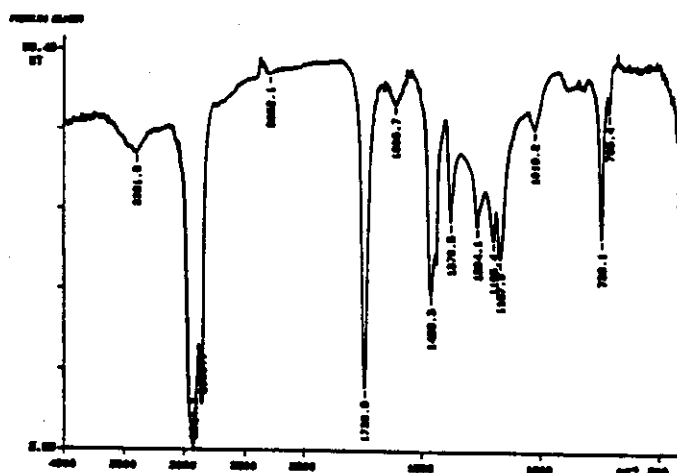


Figura 60: Espectro de infravermelho do produto da esterificação da fração ácida do óleo A

Os ésteres totais foram submetidos à cromatografia em coluna, sendo utilizada, para tanto, uma coluna de 3,2 cm de diâmetro, contendo sílica-gel numa proporção de 5g de sílica para cada 100 mg de amostra que foi eluída com tres diferentes eluentes: E1 = hexano; E2 = diclorometano e E3 = solução a 30% de metanol em clorofórmio, que forneceram, respectivamente, as frações F1, F2 e F3. Após evaporação dos solventes, essas frações foram analisadas por infravermelho e foram comparadas por CCD com um padrão de éster metílico, sendo a F2 escolhida como a fração correspondente aos ésteres metílicos, **EMA**.

Uma alíquota desta fração foi reservada para análise por CG e CG-EM e o restante foi utilizado na sequência de derivatizações para obtenção final das frações HHA e HDA.

VII.1.3.2. Redução dos ésteres

Os ésteres da fração F2, descrita acima foram submetidos à redução com hidreto de lítio e alumínio (LiAlH_4): 150 mg de F2 foram dissolvidos em 50 mL de THF e em seguida adicionou-se LiAlH_4 em excesso. A mistura foi mantida sob refluxo por 24 horas e após esse tempo foi adicionado acetato de etila, seguido de solução de HCl 6N, gota a gota, até dissolução total do material gelatinoso (hidróxido de alumínio). A extração foi feita com éter etílico e a fase etérea foi lavada com solução de NaHCO_3 (3 x 20 mL) e depois com água destilada. A evaporação do éter forneceu 140,8 mg de resíduo que foi analisado por infravermelho, quando observou-se o aparecimento da banda em 3442 cm^{-1} correspondente à hidroxila do álcool e o desaparecimento da banda correspondente à carbonila do éster em 1734 cm^{-1} (figura 61)

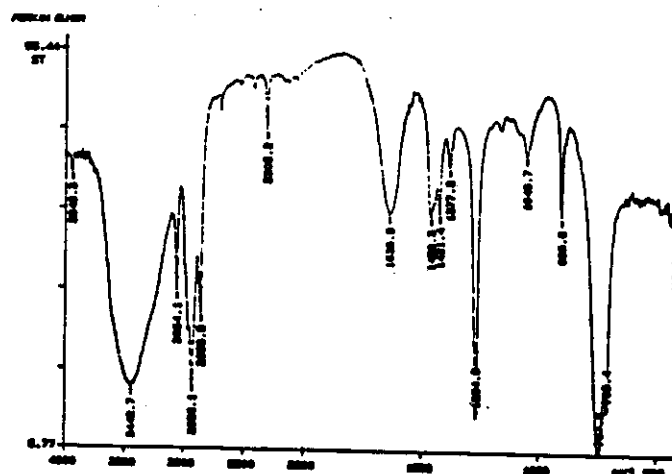


figura 61: Espectro de infravermelho do produto da redução dos ésteres totais do óleo A

O resíduo obtido foi submetido à cromatografia em coluna, utilizando-se os seguintes eluentes: E1 = 33 mL de hexano; E2 = 33 mL de diclorometano e E3 = 67 mL de acetato de etila que forneceram, respectivamente, as frações F1, F2 e F3. A evaporação dos respectivos solventes forneceu os dados apresentados na tabela abaixo

Após análise dos espectros de infravermelho destas frações e comparação por CCD com padrão de álcool, a fração F3 foi escolhida para ser utilizada na sequência de derivatizações.

VII.1.3.3. Mesilação dos álcools

Os álcools foram submetidos à reação de mesilação com cloreto de mesila, trietilamina e diclorometano na proporção de 10:1:5 (Crossland e Servis, 1970). A reação foi levada a efeito, misturando-se os reagentes, à 10°C, sob agitação, e em seguida mantendo-os em geladeira por uma noite. Posteriormente, a mistura foi transferida para um funil de separação e extraída, sequencialmente, com água gelada, com solução de HCl a 10% e com solução saturada de NaHCO₃. A remoção do solvente forneceu 40,2 mg de produto. O produto bruto foi analisado por infravermelho, quando observou-se o desaparecimento da banda característica da hidroxila, em 3442 cm⁻¹. Esse produto foi submetido à cromatografia em coluna, utilizando-se os seguintes eluentes: E1 = solução a 10% de acetato de etila em hexano e E2 = diclorometano, fornecendo as frações F1 e F2, respectivamente.

Após comparação por CCD com padrão, a fração F1 foi escolhida como constituída de mesilados e utilizada na seqência de derivatização.

VII.1.3.4. Redução dos compostos mesilados com LiAlH₄ e LiAlD₄.

O método utilizado para a redução dos compostos mesilados foi o mesmo descrito para a redução dos ésteres (seção VII.1.3.2).

A fração F1 dos compostos mesilados foi dividida em duas metades: uma foi reduzida com LiAlH₄ e a outra com LiAlD₄.

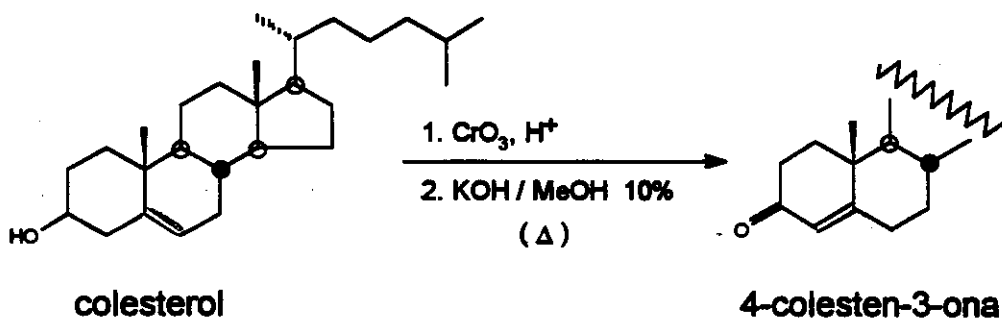
O produto resultante da redução com LiAlH₄ foi chamado de fração HHA, ou seja fração de hidrocarbonetos derivados dos ácidos e o produto resultante da redução com LiAlD₄ foi chamado de fração HDA, ou seja fração de hidrocarbonetos deuterados derivados dos ácidos.

Esses produtos foram analisados por infravermelho, quando obteve-se a confirmação da formação dos hidrocarbonetos e, após submetidos à coluna filtrante, foram analisados também por CG e CG-EM.

VII. EXPERIMENTAL

VII.3. PARTE 3: Preparação de padrões

VII.3.1. Oxidação de colesterol a 4-colesten-3-ona (Djerassi et al., 1956)



A uma solução de 3,0 g (7,77 mmol) de colesterol em 400 ml de acetona (previamente destilada sobre permanganato de potássio), resfriada a 10°C e sob atmosfera de argônio, adicionou-se, rapidamente e com agitação, 2,75 ml de solução de trióxido de crômio em ácido sulfúrico^(*). Após 5 minutos a mistura reacional foi diluída com 2 L de água e o precipitado foi filtrado e bem lavado com água, rendendo 2,48 g de um produto, que analisado por CG-EM, mostrou ser uma mistura de dois isômeros, as cetonas α,β - e β,γ -insaturadas. Essa mistura foi dissolvida, a quente, em metanol e 3 gotas de solução de hidróxido de sódio a 10% foram adicionadas. A solução foi então mantida sob refluxo por 5 minutos e em seguida neutralizada com ácido acético. O produto bruto ainda continha uma pequena quantidade da cetona β,γ -insaturada, que foi removida por cromatografia, obtendo-se 2,13 g (5,55 mmol; rendimento de 71 %) de 4-colesten-3-ona, cujo ponto de fusão, após recristalização, foi de $80\text{--}82^\circ\text{C}$.

Características espectrais do produto:

I. V. ($\nu_{\text{NaCl}}^{\text{max}}$): 2920; 1670; 1460; 1370 cm^{-1}

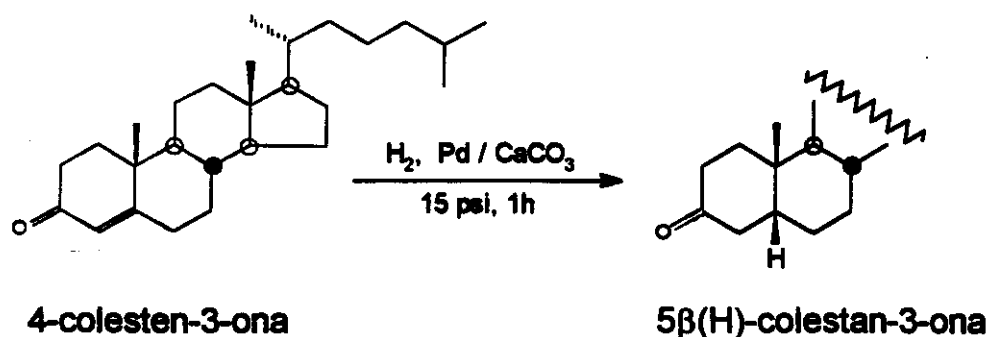
E. M. m/z (%): 384(80); 369(10); 342(75); 229(40); 124(100)

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ : 5,70 (s, 1H); 2,45–1,20 (6m, 28H); 1,18 (s, 3H); 0,91 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H); 0,86 (2d, $J = 1,0$ Hz, 6H) 0,7 (s, 3H) ppm.

RMN ^{13}C (75,5 MHz; CDCl_3) δ : 199,1; 171,1; 123,7; 56,1; 55,9; 53,8; 42,3; 39,6; 39,5; 38,5; 36,1; 35,7; 35,7; 35,6; 33,9; 32,9; 32,0; 28,2; 27,9; 24,1; 23,8; 22,8; 22,6; 21,0; 18,6; 17,3; 11,9 ppm.

^(*) Solução de 26,72 g de trióxido de crômio em 23 mL de ácido sulfúrico concentrado, diluída com água para um total de 100 mL.

VII.3.2. Redução de 4-colesten-3-ona a 5 β (H)-colestan-3-ona (Hudricky, 1984)



450 mg (1,17 mmol) de 4-colesten-3-ona foram dissolvidos em 30 ml de acetato de etila e 600 mg de paládio desativado com carbonato de cálcio foram adicionados. A mistura foi levada ao hidrogenador e deixada por 1 h, sob pressão de hidrogênio (15 psi). O produto, após submetido a coluna filtrante, foi analisado por CG-EM quando observou-se a formação de uma mistura de 5 β (H)- e 5 α (H)-colestan-3-ona, em proporção superior a 99:1 (5 β (H):5 α (H)). Após purificação por cromatografia, seguida de recristalização, obteve-se 417 mg (1,08 mmol; rendimento de 92 %) do produto, 5 β (H)-colestan-3-ona, que apresentou ponto de fusão de 64-65 °C.

Características espectrais do produto:

I. V. (ν NaCl_{max}): 2932, 2867, 1715, 1264cm⁻¹

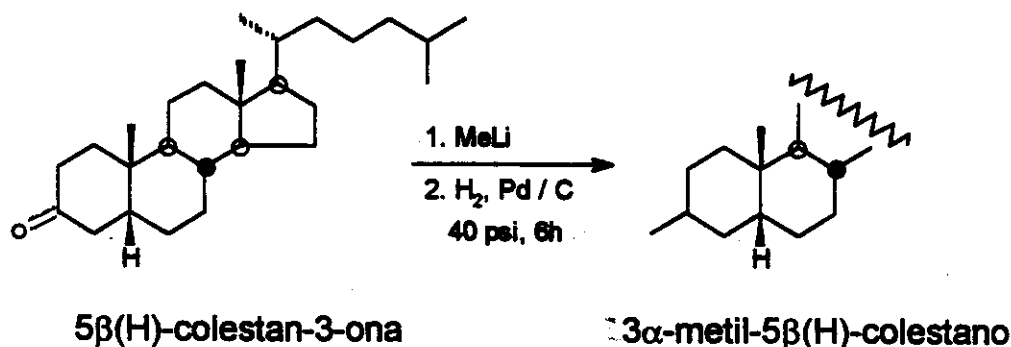
E. M. m/z (%): 386(100), 371(25), 316(70), 231(95)

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃) δ : 2,40-1,05 (6m, 30H); 1,00 (s, 3H); 0,90 (d, 6,4 Hz, 3H); 0,86 (2d, J=1,0 Hz, 6H); 0,68 (s, 3H) ppm.

RMN ¹³C (75,5 MHz; CDCl₃) δ : 211,5; 56,3; 53,8; 46,7; 44,7; 42,6; 39,9; 39,5; 39,0; 38,5; 36,2; 35,8; 35,6; 35,4; 31,7; 29,0; 28,2; 28,0; 24,2; 23,9; 22,8; 22,6; 21,5; 18,7; 12,0; 11,4 ppm.

VII.3.3. Preparação da série de padrões com configuração 5 β (cis):

VII.3.3.1. Preparação de 3 α -metil-5 β (H)-colestano (Larock, 1989)



VII.3.3.1.1. Adição de metil lítio:

A uma solução de 5 β (H)-colestano-3-ona (116 mg, 0,30 mmol) em THF (5 mL), a 0°C, sob vigorosa agitação e atmosfera de nitrogênio, adicionou-se metil lítio em hexano (0,2 ml, 0,37 mmol). A mistura reacional permaneceu a essa temperatura por 15 minutos. Em seguida adicionou-se solução saturada de cloreto de amônia e extraiu-se a fase aquosa com éter etílico (5 x 10 mL). O extrato etéreo foi tratado com sulfato de sódio e concentrado a vácuo. A análise do produto, por GC-EM, mostrou que se tratava de uma mistura de três olefinas, indicando que o álcool formado na alquilação, desidratou durante a manipulação.

VII.3.3.1.2. Hidrogenação da mistura de olefinas:

Como o objetivo seguinte era a obtenção do hidrocarboneto saturado e as três olefinas levavam à formação dos mesmos produtos, a mistura foi submetida à hidrogenação, usando etanol como solvente, paládio sobre carvão como catalizador e aplicando uma pressão de hidrogênio de 40 psi, por seis horas. Obteve-se 95,12 mg de produto (0,25 mmol; rendimento total de 82 %); $\alpha_D^{25} = 20,4$ ($c=0,00980$ g/l, CHCl_3).

Características espectrais do produto:

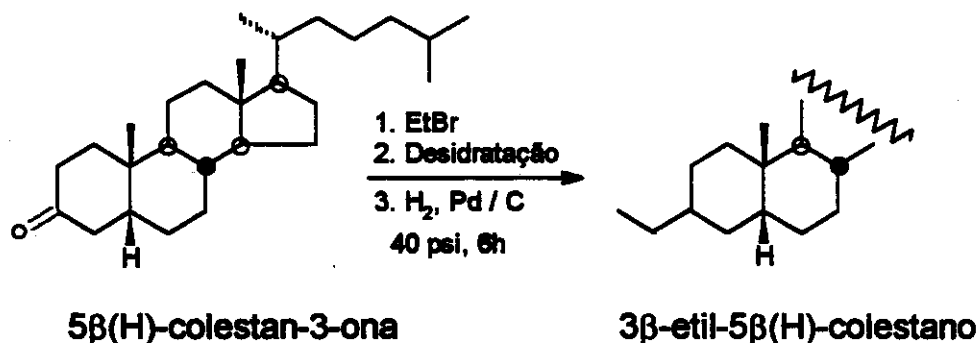
I. V. (ν NaCl_{max}): 2925; 2853; 1458; 1376 cm^{-1} .

E. M. m/z (%): 386(36); 371(48); 231(100); 165(42).

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ : 2,00-1,00 (m, 32H); 0,92 (s, 3H); 0,89 (t, $J=6,5$ Hz, 3H); 0,87 (d, $J=1,3$ Hz, 6H); 0,85 (d, $J=1,5$ Hz, 3H) 0,64 (s, 3H) ppm

RMN ^{13}C (75,5 MHz; CDCl_3) δ : 56,7; 56,4; 43,6; 42,7; 40,6; 40,3; 39,6; 37,5; 36,2; 36,2; 35,9; 35,8; 34,9; 33,6; 30,1; 29,7; 28,4; 28,1; 27,5; 26,6; 24,3; 24,0; 23,8; 22,8; 22,6; 20,9; 18,7; 12,1 ppm

VII.3.3.2. Preparação de 3 α -etil-5 β (H)-colestano (Blomber e Hartog, 1977)



VII.3.3.2.1. Adição de brometo de etila:

A 79 mg de magnésio, colocadas em um balão sob atmosfera de argônio, adicionou-se, à temperatura e com agitação, 3 mL de éter etílico, 0,3 ml de brometo de etila e alguns cristais de iodo. Observou-se a formação de uma coloração marron, seguiu-se uma reação brusca e a coloração passou a amarelo, branco e por fim incolor. O balão foi colocado em banho de gelo e, através de uma cânula, adicionou-se 338 mg de 5 β (H)-colestano-3-ona (0,88 mmol) dissolvidos em éter etílico. Deixou-se a mistura sob agitação durante toda a noite e, após manipulação obteve-se 253,76 mg do álcool desejado (0,61 mmol; rendimento de 69 %), identificado por CG-EM.

VII.3.3.2.2. Desidratação do álcool (Nishiguchi et al., 1987):

Ao álcool obtido na reação anterior, dissolvido em tolueno, adicionou-se 194,59 mg (1,22 mmol) de sulfato de cobre. A mistura foi mantida sob refluxo por duas horas. A análise por CG-EM mostrou que o álcool foi totalmente desidratado, dando origem a uma mistura de três olefinas.

VII.3.3.2.3. Hidrogenação da mistura de olefinas:

A mistura de olefinas foi dissolvida em etanol e, após a adição de quantidade catalítica de paládio sobre carvão, foi submetida à pressão de hidrogênio de 40 psi, por seis horas. Obteve-se 214,72 mg (0,54 mmol) de 3 α -etil-5 β (H)-colestano (rendimento total de 61 %); $\alpha_D^{25} = 31,6$ (c=0,0103 g/l, CHCl₃).

Características espectrais do produto:

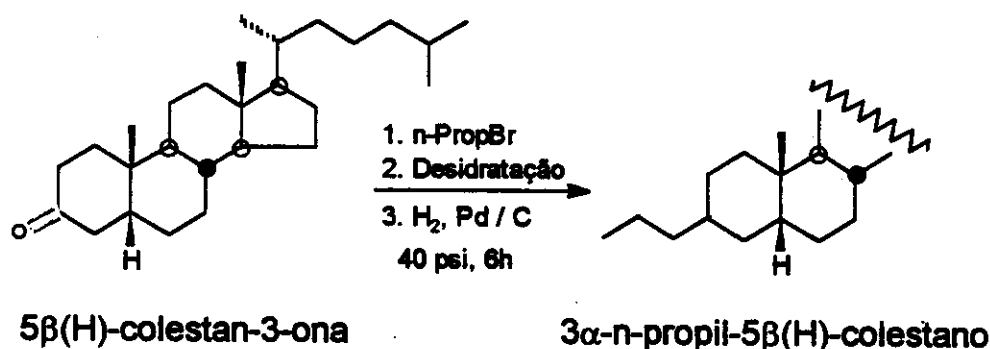
I. V. ($\nu_{\text{NaCl}}^{\text{max}}$): 2927; 2862; 1466; 1382; cm^{-1} .

E. M. m/z (%): 400(41); 385(81); 245(100); 179(18).

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ : 2,10-1,00 (mm, 34H); 0,92 (s, 3H); 0,89 (t, $J=6,5$ Hz, 3H); 0,87 (d, $J=1,3$ Hz, 6H); 0,85 (d, $J=1,5$ Hz, 3H) 0,64 (s, 3H) ppm

RMN ^{13}C (75,5 MHz; CDCl_3) δ : 56,68; 56,42; 43,60; 42,75; 40,64; 40,39; 40,39; 40,36; 39,58; 37,48; 36,24; 35,95; 35,84; 35,27; 33,82; 30,19; 28,38; 28,05; 27,62(2); 26,60; 24,29; 24,10; 23,85; 22,84; 22,59; 20,91; 18,72; 12,07; 11,58 ppm.

VII.3.3.3. Preparação de 3α -n-propil- 5β (H)-colestano



A preparação do 3α -n-propil- 5β (H)-colestano, seguiu a mesma seqüência de reações descritas para a preparação do 3α -etil- 5β (H)-colestano (seção VII.3.3.2.), apenas substituindo brometo de metila por brometo de n-propila. O produto foi obtido com um rendimento total de 60 %.

Caracterização do produto:

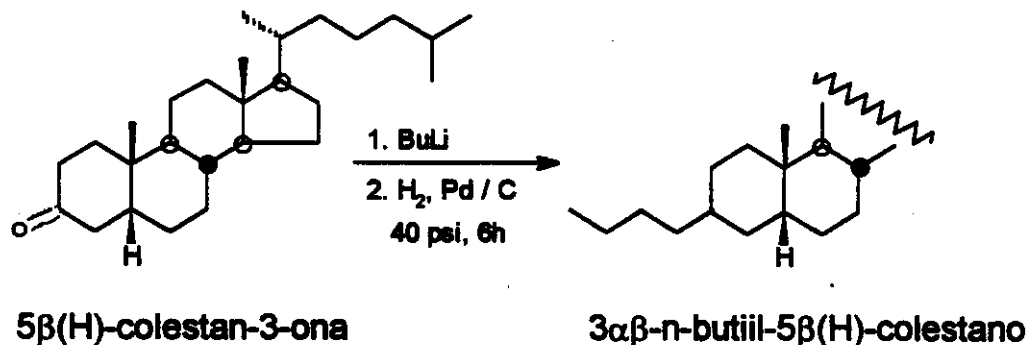
$\alpha_D^{25} = 26,8$ ($c=0,01121$ g/l, CHCl_3);

I. V. ($\nu_{\text{NaCl}}^{\text{max}}$): 2926; 2862; 1465; 1379 cm^{-1} .

E. M. m/z (%): 414(57); 399(100); 259(69); 193(12).

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ : 2,00-1,00 (mm, 36H); 0,91 (s, 3H); 0,89 (t, 3H); 0,87 (d, $J=1,3$ Hz, 6H); 0,85 (d, $J=1,3$ Hz, 3H); 0,64 (s, 3H) ppm.

RMN ^{13}C (75,5 MHz; CDCl_3) δ : 56,7; 56,4; 43,6; 40,7; 40,4; 40,0; 39,6; 38,3; 37,5; 36,2; 36,0; 35,8; 35,3; 34,2; 28,4; 28,0; 28,0; 27,6; 26,6; 24,3; 24,1; 23,9; 22,8; 22,6; 20,9; 20,1; 18,7; 14,5; 12,1 ppm.

VII.3.3.4. Preparação de 3 α -n-butil-5 β (H)-colestano

A preparação do 3 α -n-butil-5 β (H)-colestano, seguiu a mesma seqüência de reações descritas para a preparação do 3-metil-5 β -colestano (seção VII.3.3.1.), apenas substituindo metil lítio por n-butil lítio. O produto foi obtido com um rendimento total de 79 %.

Caracterização do produto:

$\alpha_D^{25} = 32,4$ (c=0,0108 g/l, CHCl₃);

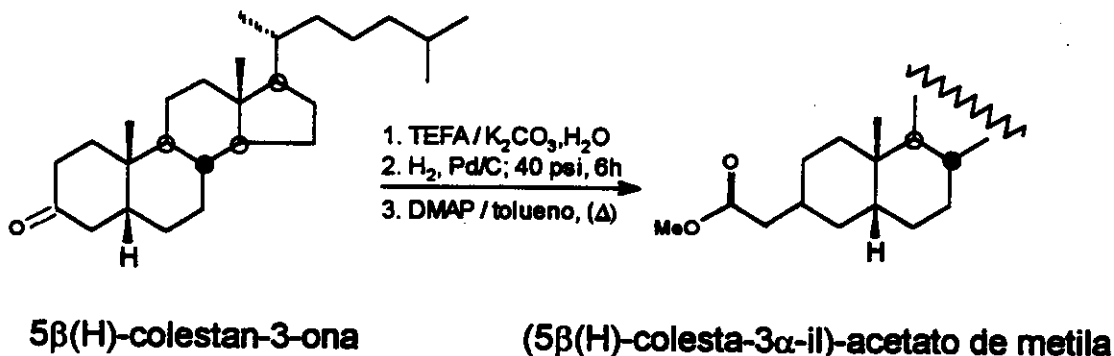
I. V. (ν NaCl_{max}): 2926; 2856; 1466; 1382 cm⁻¹.

E. M. m/z (%): 428(31); 413(77); 273(100); 207(23).

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃) δ : 2,00-1,00 (mm, 38H); 0,91 (s, 3H); 0,88 (sl, 3H); 0,87 (d, J= 1,2 Hz, 6H); 0,85 (d, J= 1,1 Hz, 3H); 0,64 (s, 3H) ppm.

RMN ¹³C (75,5 MHz; CDCl₃) δ : 56,7; 56,4; 43,6; 42,7; 40,6; 40,3; 39,6; 38,5; 37,5; 37,3; 36,2; 35,9; 35,8; 35,2; 34,2; 29,3; 28,3; 28,0; 27,6; 26,6; 24,3; 24,1; 23,8; 23,1; 22,8; 22,6; 20,9; 18,7; 14,1; 12,0 ppm.

VII.3.3.5. Preparação do (5 β (H)-colesta-3 α -il)-acetato de metila (Texier-Boullet e Foucaud, 1979)



VII.3.3.5.1. Preparação do éster insaturado:

Uma mistura de carbonato de potássio (69 mg, 0,5 mmol), fosfonoacetato de trietila (67,5 mg, 60 μL , 0,3 mmol), 5 β (H)-coleston-3-ona (100 mg, 0,26 mmol) e 3 mL de água foi agitada à temperatura ambiente, por dois dias. A mistura foi diluída com água e extraída com hexano. O extrato foi tratado com sulfato de sódio anidro e concentrado em rotavapor. Obteve-se 79 mg (0,17 mmol; rendimento de 68%) do éster etílico insaturado, identificado por CG-EM.

VII.3.3.5.2. Hidrogenação do éster insaturado:

Ao éster insaturado dissolvido em etanol, adicionou-se quantidade catalítica de paládio sobre carvão. Essa mistura foi submetida à pressão de hidrogênio de 40 psi, por seis horas e obteve-se o éster etílico, identificado por CG-EM.

VII.3.3.5.3. Transesterificação:

Ao éster saturado dissolvido em tolueno, sob atmosfera de nitrogênio, adicionou-se 10,5 mg (0,09 mmol) de 4-(dimetilamino)piridina e deixou-se em refluxo por 40 h. Após resfriamento, adicionou-se solução de cloreto de amônia e a mistura foi extraída com acetato de etila. Após evaporação do solvente à pressão reduzida, obteve-se 40,1 mg (0,09 mmol) do produto, correspondendo a um rendimento total de 35%.

Características espectrais do produto:

I. V. (ν NaCl_{max}): 2931; 2867; 1729; 1466; 1380; 1151 cm^{-1}

RMN ^1H (300 MHz; CDCl_3) δ : 3,65 (s, OCH_3); 2,19 (d, CH_2CO); 0,92 (s, 3H, H-19); 0,64 (s, 3H, H-18)

RMN ^{13}C (75,5 MHz; CDCl_3) δ : 173,8; 56,7; 56,4; 51,4; 46,4; 42,7; 42,0; 40,6; 40,2; 39,6; 37,5; 36,2; 36,1; 36,0; 35,9; 35,2; 34,2; 28,4; 28,3; 28,1; 27,5; 26,5; 24,3; 24,3; 23,9; 22,8; 22,6; 20,9; 18,7; 12,1 ppm

VII.3.4. Preparação da série de padrões com configuração 5 α (trans):

Todos os hidrocarbonetos padrões desta série: 3 β -metil-5 α (H)-colestano, 3 β -etil-5 α (H)-colestano, 3 β -n-propil-5 α (H)-colestano e 3 β -n-butil-5 α (H)-colestano, foram preparados seguindo o mesmo procedimento e com os mesmos reagentes utilizados na preparação dos compostos da série 5 β , apenas substituindo o substrato 5 β (H)-colestano-3-ona por 5 α (H)-colestano-3-ona.

Esses produtos foram obtidos com rendimentos totais de, respectivamente, 86, 67, 64 e 85 % e foram caracterizados por I. V. ; E. M.; RMN ^1H e RMN ^{13}C , e os resultados destas análises são descritas em seguida.

VII.3.4.1. 3 β -metil-5 α (H)-colestano

$$\alpha_D^{25} = 24,8 \text{ (c=0,0101 g/l, CHCl}_3\text{)};$$

$$\text{I. V. (v NaCl}_{\text{max}}\text{): 2930; 2845; 1466; 1376 cm}^{-1}$$

$$\text{E. M. m/z (\%): 386(31); 371(38); 231(100); 163(32).}$$

RMN ^1H (300 MHz; CDCl₃) δ : 2,00-1,00 (mm, 32H); 0,89 (t, J= 6,5 Hz, 3H); 0,87 (d, J= 1,3 Hz, 6H); 0,85 (d, J= 1,5 Hz, 3H); 0,74 (s, 3H); 0,64 (s, 3H) ppm

RMN ^{13}C (75,5 MHz; CDCl₃) δ : 56,6; 56,4; 54,7; 46,8; 42,6; 40,2; 39,6; 38,8; 37,9; 36,2; 35,8; 35,8; 35,6; 33,2; ;2,2; 31,0; 29,0; 28,3; 28,0; 24,2; 23,9; 22,8; 22,7; 22,6; 21,1; 18,7; 12,3; 12,1 ppm

VII.3.4.2. 3 β -etil-5 α (H)-colestano

$$\alpha_D^{25} = 23,2 \text{ (c=0,0097 g/l, CHCl}_3\text{)};$$

$$\text{I. V. (v NaCl}_{\text{max}}\text{): 2918; 2850; 1465; 1383 cm}^{-1}$$

$$\text{E. M. m/z (\%): 400(50); 385(64); 245(100); 177(32).}$$

RMN ^1H (300 MHz; CDCl₃) δ : 2,00-1,00 (mm, 34H); 0,89 (t, J= 6,5 Hz, 3H); 0,87 (d, J= 1,3 Hz, 6H); 0,85 (d, J= 1,5 Hz, 3H); 0,74 (s, 3H); 0,64 (s, 3H) ppm

RMN ^{13}C (75,5 MHz; CDCl₃) δ : 56,7; 56,5; 54,9; 46,8; 42,7; ;40,2; 40,0; 39,6; 38,8; 36,3; 36,2; 35,9; 35,7; 35,5; 32,3; 30,1; 29,2; 28,7; 28,3; 28,1; 24,3; 23,9; 22,9; 22,6; 21,1; 18,7; 12,4; 12,1; 11,5; ppm

VII.3.4.3. 3 β -propil-5 α (H)-colestano

$\alpha_D^{25} = 26,9$ (c=0,0093 g/l, CHCl₃);

I. V. (ν NaCl_{max}): 2928; 2850; 1465; 1383 cm⁻¹

E. M. m/z (%): 414(47); 399(59); 259(100); 191(32).

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃) δ : 2,00-1,00 (m, 36H); 0,89 (t, J= 6,5 Hz, 3H); 0,87 (d, J= 1,3 Hz, 6H); 0,85 (d, J= 1,5 Hz, 3H); 0,74 (s, 3H); 0,64 (s, 3H) ppm

RMN ¹³C (75,5 MHz; CDCl₃) δ : 38,8; 29,0; 39,9; 35,9; 46,8; 29,1; 32,3; 35,6; 54,8; 36,2; 21,1; 40,2; 42,7; 56,7; 24,3; 28,3; 16,4; 12,1; 12,4; 35,9; 18,7; 36,2; 23,9; 39,6; 28,0; 22,6; 22,8; 37,8; 20,0; 14,4 ppm

VII.3.4.4. 3 β -butil-5 α (H)-colestano

$\alpha_D^{25} = 22,3$ (c=0,0112 g/l, CHCl₃);

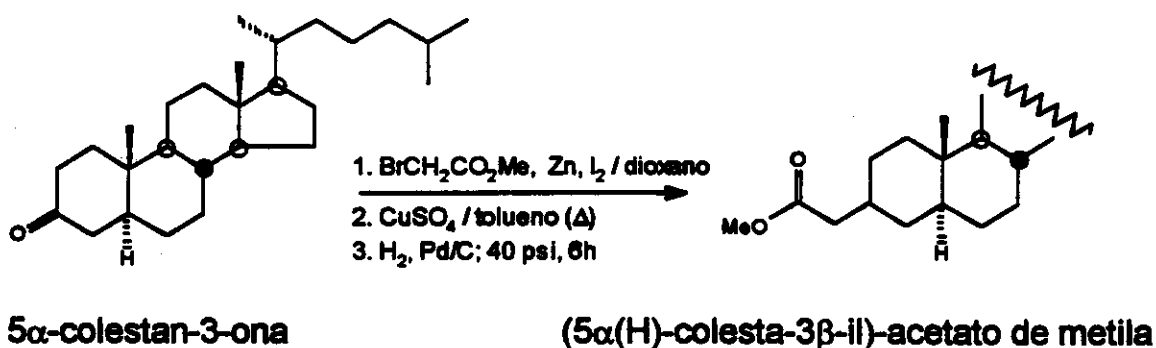
I. V. (ν NaCl_{max}): 2944; 2850; 1466; 1378 cm⁻¹

E. M. m/z (%): 428(33); 413(55); 273(100); 205(27).

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃) δ : 2,00-1,00 (m, 38H); 0,89 (t, J= 6,5 Hz, 3H); 0,87 (d, J= 1,3 Hz, 6H); 0,85 (d, J= 1,5 Hz, 3H); 0,74 (s, 3H); 0,64 (s, 3H) ppm

RMN ¹³C (75,5 MHz; CDCl₃) δ : 38,8; 29,1; 38,1; 35,9; 46,8; 29,1; 32,3; 35,6; 54,8; 36,2; 21,1; 40,2; 42,7; 56,7; 24,3; 28,3; 56,4; 12,1; 12,4; 35,9; 18,7; 36,2; 23,9; 39,6; 28,0; 22,6; 22,8; 37,3; 29,3; 23,1; 14,2 ppm

VII.3.4.5. Preparação do (5 α (H)-colesta-3 β -il)-acetato de metila (Han e Boudjouk, 1982)



VII.3.4.1.1. Preparação do β -hidróxi-éster:

Em um balão, juntou-se, sob atmosfera de nitrogênio, 200 mg (0,52 mmol) de 5 α (H)-colestana-3-ona dissolvidos em 5 mL de dioxano, 95 mg (0,62 mmol) de α -bromoacetato de etila, 61,4 mg (0,94 mmol) de zinco em pó e 28 mg (0,11 mmol) de iodo. O balão foi mergulhado em um banho de ultra-som e a marcha da reação foi acompanhada por CCD. Após uma hora o produto bruto foi juntado a uma mistura gelo-água (20 mL) e foi extraído com diclorometano (2 x 50 mL), seguido de separação e secagem do solvente. A evaporação do solvente a pressão reduzida forneceu 212,52 mg (0,46 mmol) do β -hidróxi-éster desejado, com 88% de rendimento.

VII.3.4.5.2. Desidratação do β -hidróxi-éster:

Ao β -hidróxi-éster dissolvido em tolueno, adicionou-se 147 mg (0,92 mmol) de sulfato de cobre. A mistura foi mantida sob refluxo por duas horas. A análise por CG-EM mostrou que o éster foi totalmente desidratado, dando origem a uma mistura de três olefinas.

VII.3.4.5.3. Hidrogenação da mistura de olefinas:

À mistura de olefinas dissolvida em etanol, adicionou-se quantidade catalítica de paládio sobre carvão. Essa mistura foi submetida à pressão de hidrogênio de 40 psi, por seis horas e obteve-se 175,36mg (0,39 mmol) de éster (5 α (H)-colesta-3 β -il)-acetato de metila (rendimento total das reações de 75 %)

Características espectrais do produto:

I. V. (ν NaCl_{max}): 2920; 2850; 1747; 1465; 1381; 1154 cm⁻¹

E. M. m/z (%): 444(29); 429(31); 289(100); 221(43)

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃) δ : 3,66 (s, OCH₃); 2,32 (d, CH₂CO); 0,75 (s, 3H, H-19); 0,64 (s, 3H, H-18).

RMN ¹³C (75,5 MHz; CDCl₃) δ : 173,9; 56,6; 56,4; 54,6; 51,4; 46,4; 42,7; 42,0; 40,1; 39,6; 38,4; 36,2; 35,9; 35,8; 35,6; 35,4; 35,3; 32,1; 28,9; 28,6; 28,3; 28,1; 24,2; 23,9; 21,0; 22,9; 22,6; 18,7; 12,3 e 12,1 ppm,

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R. G.; HANSEN, R. P. (1967)** *The Occurrence of diastereomers of phythanic and pristanic acids and their determination by gas-liquid chromatography.. Lipids* **357**, 158-160.
- ALEXANDER, R.; KAGI, R.; NOBLE, R. (1983)** *Jdentification of bicyclics sesquiterpenes drimane and eudesmane in petroleum.J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 226-228.
- ALEXANDER, R.; KAGI, R.; NOBLE, R.; VOLKMAN, J. K. (1984)** *Jdentification of some bicycllic alkane in petroleum. Org. Geochem.* **6**, 63-70.
- AQUINO NETO, F. R. (1984)** *Hidrocarbonetos saturados como indicadores geoquímicos moleculares. Quím. Nova* **7**, 79-84.
- AQUINO NETO, F. R.; TRENDEL, J. M.; RESTLE, A.; CONAN, J.; ALBRECHT, P. A. (1981)** *Occurence and formation of tricycllic and tetracycllic terpanes in sediments and petroleum, Adv. Org. Geochem.,* 659-667.
- AQUINO NETO, F. R.; RESTLE, A.; CONAN, J.; ALBRECHT, P. A.; OURISSON, G. (1982)** *Novel tricycllic terpanes (C₁₉, C₂₀) in sediments and petroleum, Tetrahedron Lett.* **23**, 2027-2030.
- AQUINO NETO, A. R.; CARDOSO, J. N.; RODRIGUES, R.; TRINDADE, L. A. F. (1986)** *Evolution of tricycllic alkanes in the Espirito Santos Basin, Brazil Geochim. Cosmochim. Acta* **50**, 2069-2072.
- BAKARAT, A. O.; YEN, T. F. (1990)** *Distribution of pentacycllic triterpanoids in Green River oil shale kerogen. Org. Geochem.* **15**, 299-311.
- BARRICK, R. C.; HEDGES, J. I. (1981)** *Hydrocarbon geochemistry of the Puget Sound region II. Sedimentary diterpenoid, steroid and triterpenoid hydrocarbons. Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 381-392
- BEHAR, F. H.; ALBRECHT, P. (1984)** *Correlations between carboxylic acids and hydrocarbons in several crude oils. Alteration by biodegradation. Org. Geochem.* **6**, 597-604.
- BLACK, T. H. (1983)** *The preparation and reactions of diazomethane. Aldrichimica Acta.* **16**, 3.
- BLOMBER, C.; HARTOG, F. A. (1977)** *The Barbier reaction - a one step synthesis via organomagnesium compounds. Synthesis.* **(1)**, 18-30.

- BLUMER, M.; COOPER, W. J. (1967)** *Isoprenoid acids in recent sediments.* Science **158**, 1463.
- BOON, J. J.; RIJPSRA, W. I. C.; DE LANGE, F.; DE LEEUW, J. W.; YOSHIOKA, M.; SHIMIZU, Y. (1979)** *Black sea sterol-a molecular fossil for dinoflagellate blooms.* Nature, **277**, 125-127.
- BRASSEL, S. C.; WARDROPER, A. M. K.; THOMSON, I. D.; MAXWELL, J. R.; EGLINTON, G. (1981)** *Specific acyclic isoprenoids as biological markers of methanogenic bacteria in marine sediments.* Nature **290**, 693-696.
- BRUHN, C. H. L.; CAINELLI, C.; MATOS, R. M. D. (1988)** *Habitat do petróleo e fronteiras exploratórias nos rifts brasileiros.* Boletim de Geociências da PETROBRÁS **2(2/4)** 217-253.
- BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; WILLIAMS, D. H. (1964)** *Structure elucidation of natural products by mass spectrometry, Vol.II,* Holden Day, San Francisco, 306 p.
- BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; WILLIAMS, D. H. (1965)** *Interpretation of mass spectra of organic compounds,* Holden Day, San Francisco.
- BURLINGAME, A. L.; SIMONEIT, B. R. (1968)** *High resolution mass spectral analysis of the mineral entrapped fatty acids isolated from the green river formation (Eocene)* Nature **218**, 252.
- CASON, J.; GRAHAM, D. W. (1965a)** *Isolation of isoprenoids acids from a California Petroleum.* Tetrahedron **21**, 471-483.
- CASON, J.; LIAUW, K. L. (1965b)** *Characterization and synthesis of a monocyclic eleven-carbon acid isolated from a California petroleum.* J. Org. Chem. **30**, 1763-1769.
- CASON, J.; KHODAR, A. I. A. (1966)** *Separation from a California petroleum and characterization of geometric isomers of 3-ethyl-4-methylcyclopentylacetic acid.* J. Org. Chem. **31**, 3618-3625.
- CHICARELLI, M. I.; AQUINO NETO, F. R.; ALBRECHT, P. (1988)** *Occurrence of four stereoisomeric tricyclic terpane series in immature Brazilian shales.* Geochim. Cosmochim. Acta **52**, 1955-1959
- COOPER, J. E., BRAY, E. E. (1963)** *A postulated role of fatty acids in petroleum formation.* Geochim. Cosmochim. Acta **27**, 1113-1127.
- CROSSLAND, R. K.; SERVIS, K. L. (1970)** *A facile synthesis of methanesulfonate esters.* J. Org. Chem. **35**, 3195-3196.

- CYR, T. D.; STRAUZ, O. P. (1983)** The structure of tricyclic terpenoid carboxylic acid in their parent alkanes in the Albert oil sands. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1028-1030.
- CYR, T. D.; STRAUZ, O. P. (1984)** Bound carboxylic acids in the Alberta oil sands. *Org. Geochem.* 7, 127-140.
- DAHL, J.; MOLDOWAN, J. M.; MCCAFFREY, M. A.; LIPTON, P. A. (1992)** 3-Alkyl steranes in petroleum: evidence for a new class of natural products. *Nature* 355, 154-157.
- DANY, F.; RIOLO, J.; TRENDEL, J. M.; ALBRICHT, P. (1990)** 3 β -Carboxysteranes, a novel family of fossil steroids. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1228-1230.
- DJERASSI, C.; ENGLE, R. R.; BOWERS, A. (1956)** The direct conversion of steroidal Δ^5 -3 β -alcohols to Δ^4 -3-ketones. *J. Org. Chem.* 21, 1547-1549.
- DOUGLAS, A. G.; DOURAGHI-ZADEH, K.; EGLINTON, G.; MAXWELL, J. R. RAMSAY, J. N. (1966)** Fatty acids in sediments including the Green River shale (Eocene) and Scottish Torbanite (Carboniferous) *Adv. Org. Geochem.*, 315-334.
- EKWEOZOR, C. M.; TELNAES, N. (1990)** Oleanane parameter: verification by quantitative study of the biomarker occurrence in sediments of the Niger delta. *Org. Geochem.* 16, 401-413
- EGLINTON, G.; DOUGLAS, A. G.; MAXWELL, J. R.; RAMSAY, J. N.; STÄLBERGH-STENHAGEN, S. (1966)** Occurrence of isoprenoid fatty acids in Green River shale. *Science* 153, 1133.
- ENSMINGER, A.; ALBRECHT, P.; OURISSON, G.; KIMBLE, P. J.; MAXWELL, J. R.; EGLINTON, G. (1972)** Homohopane in Messel oil shale: First identification of a C₃₁ pentacyclic triterpane in nature. Bacterial origin of some triterpanes in ancient sediments?. *Tetrahedron Lett.* 3861.
- ENSMINGER, A.; JOLY, G.; ALBRECHT, P. (1978)** Rearranged steranes in sediments and crude oils. *Tetrahedron Lett.* 1575-1578.
- HAN, B-H; BOUDJOUK, P. (1982)** Organic sonochemistry. Sonic acceleration of the Reformatsky reaction. *J. Org. Chem.* 47, 5030-5032.
- HAUG, P.; SCHNOES, H. K.; BURLINGAME, H. L. (1967)** Isoprenoid and dicarboxylic acids isolated from Colorado Green River shale (Eocene). *Science* 158,772.

- TEN HAVEN, H. L.; DE LEEUW, J. W.; RULLKÖTER, J.; SINNINGHE DAMSTÉ, J. S. (1987) Restricted utility of the pristane/phytane ratio as paleoenvironmental indicator. *Nature* **330**, 641-643.
- HEISSLER, D.; OCAMPO, R.; ALBRECHT, P. RIEHL, J.; OURISSON, G. (1984) Identification of long chain tricyclic terpene hydrocarbons (C_{21} - C_{30}) in geological samples. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 496-498.
- HUANG, W. Y.; MEINSCHIN, W. G. (1978) Sterols in sediments from Baffin Bay Texas. *Geochim. Cosmochim. Acta* **42(9)**, 1391-1396.
- HUDRICKY, M. (1984) *Reduction in Organic Chemistry*. Ellis Horwood, England.
- JAFFÉ, R.; GALLARDO, M. T. (1993) Application of carboxylic acids as indicators of biodegradation and migration of crude oils from the Maracaibo Basin, Western Venezuela. *Org. Geochem.* **20**, 973-984.
- JAFFÉ, R.; GALLARDO, M. T.; ALBRECHT, P.; OUDIN, J. L. (1987) Carboxylic acids as indicators of oil migration - J. Occurrence and geochemical significance of C-22 diastereoisomers of the (17 β H,21 β H) C_{30} Hopanoic acid in geological samples. *Adv. Org. Geochem.* **20**, 483-488.
- KIMBLE, B.J.; MAXWELL, J. R.; PHILP, J. R.; EGLINTON, G.; ALBRECHT, P.; ENSMINGER, A.; ARPINO, P.; OURISSON, G. (1974) Tri- and tetraterpenoids in Messel oil shale. *Geochim. Cosmochim. Acta* **38**, 1165-1181.
- KVENVOLDEN K. A. (1966) Evidence for transformation of normal fatty acids in sediments. *Adv. Org. Geochem.*, 335-362.
- KVENVOLDEN K. A. (1987) Normal fatty acids in sediments. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **44**, 628-634.
- LAROCK, R. C. (1993) *Comprehensive organic transformation - a guide to functional group preparation*. VCH Publishers, New York.
- LI, M.; JOHNES, R. B.; MEI, B. (1990) A study in early diagenesis: biomarker composition of a suite of immature coals and coally shales. *Org. Geochem.* **16**, 1067-1075.
- LIVSEY, A.; DOUGLAS, A. G.; CONAN, J. (1984) Diterpenoid hydrocarbon in sediments from offshore (Labrador) well. *Org. Geochem.* **6**, 73-81.
- LOPES, J. A. D.; MELLO, M. R., REIS, F. A. M. (1992) Carboxylic acids in oils of Potiguar Basin. III Congresso Latino Americano de Geoquímica Orgânica Manaus

- MAC LEAN, I.; EGLINTON, G.; DOURAGHI-ZADEH, K.; ACKMAN, R. J.; HOOPER, S. N. (1968)** *Correlation of stereoisomerism in present-day and geologically ancient isoprenoid fatty acids. Nature* **218**, 1019.
- MACKENZIE, A. S.; HOFFFMAN, C. F.; MAXWELL, J. R. (1981a)** *Molecular parameters of maturation in the Toarcian shales, Paris Basin, France, III - Changes in aromatic steroid hydrocarbons. Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 1345-1355.
- MACKENZIE, A. S.; WOLFF, G. A.; MAXWELL, J. R. (1981b)** *Fatty acids in some biodegraded petroleum. Possible origins and significance. Adv. Org. Geochem.* **20**, 637-649.
- MACKENZIE, A. S.; BRASSEL, S. C.; EGLINTON, G.; MAXWELL, J. R. (1982)** *Chemical fossils: the geological fate of steroids. Science* **217**, 491-504.
- MCCARTHY, R. D.; DUTHIE, A. H. (1962)** *A rapid quantitative method for the separation of free fatty acids from other lipids. J. Lipid. Res.* **6**, 503-117.
- MELLO, M. R. (1988)** *Geochemical and molecular studies of depositional environments of source rocks and their derived oils from the Brazilian marginal basins. PhD Thesis, University of Bristol, England, 240 p.*
- MELLO, M. R.; GANGLIONONE, P. C.; BRASSEL, S. C.; MAXWELL, J. R. (1988)** *Geochemical and biological marker assessment of depositional environments using Brazilian offshore oils. Marine and Petroleum Geology* **5**, 205-223.
- MILLES, J. A. (1988)** *Illustrated Glossary of Petroleum Geochemistry. Oxford Science Publishers, Oxford.*
- MOLDOWAN, J. M.; SEIFERT, W. K. (1979)** *Head-to-head linked isoprenoid hydrocarbons in petroleum. Science* **204**, 169-171.
- MOLDOWAN, J. M.; SEIFERT, W. K.; GALLEGOS, E. J. (1983)** *Identification of an extended series of tricyclic terpanes in petroleum. Geochim. Cosmochim. Acta* **47**, 1531-1534.
- MOLDOWAN, J. M.; SUNDARARAMAN, P.; SCHOELLI, M. (1986)** *Sensitivity of biomarker properties to depositional environment and/or source input in the Lower Toarcian of S. W. Germany. Org. Geochem.* **10**, 915-926.
- MOLDOWAN, J. M.; SEIFERT, W. K.; ARNOLD, E.; CLARDY, J. (1984)** *Structure proof and significance of stereoisomeric 28, 30-bisnorhopanes*

- in petroleum and petroleum source rocks. *Geochim. Cosmochim. Acta* **48**, 1651-1661.
- MURPHY, R.C.; DJURICIC, M. V.; MARKLEY, S. P.; BIEMAN, K. (1969)** Acidic components of Green River Shale identified by a gas chromatographic mass spectrometry - computer system. *Science* **165**, 695-698.
- NISHIGUCHI, T.; MACHIDA, N.; YAMAMOTO, E. (1987)** Dehydration of alcohols catalyzed by copper sulfate adsorbed in silica gel. *Tetrahedron Lett.* **28(33)**, 4565-4568.
- NOBLE, R. A.; ALEXANDER, R.; KAGI, R. I. (1987)** Configurational isomerization in sedimentary bicyclic alkanes. *Org. Geochem.* **11**, 151.
- NOBLE, R.; ALEXANDER, R.; KAGI, R. I. (1985a)** Occurrence of bisnorhopane, trisnorhopane and 25-norhopane as free hydrocarbons in some Australian shales. *Org. Geochem.* **8**, 171-176.
- NOBLE, R. A.; ALEXANDER, R.; KAGI, R. I.; KNOX, J. (1985b)** Tetracyclic diterpenoid hydrocarbons in some Australian coals, sediments and crude oils. *Geochim. Cosmochim. Acta* **49**, 2141-2147.
- NOBLE, R. A.; KNOX, J.; ALEXANDER, R.; KAGI, R. I. (1985c)** Identification of tetracyclic diterpene hydrocarbons in Australian crude oils and sediments *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 32-33.
- OURISSON, G.; ALBRECHT, P. (1992)** Hopanoids. 1. Geohopanoids: the most abundant natural products of earth?. *Acc. Chem. Res.* **25**, 398-402.
- OURISSON, G.; ROHMER, M. (1992)** Hopanoids. 2. Biohopanoids: a novel class of bacterial lipids. *Acc. Chem. Res.* **25**, 403-408
- OURISSON G.; ALBRECHT, P.; RHOMER, M. (1979)** The hopanoids, palaeochemistry and biochemistry of a group of natural products. *Pure and Appl. Chem.* **51**, 709-729.
- OURISSON G.; ALBRECHT, P.; RHOMER, M. (1982)** Predictive microbial biogeochemistry from molecular fossils to procaryotic membranes. *Trends Biochem. Sciences* **7**, 236-239.
- PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R. (1986)** Purification of Laboratory Chemicals. Pergamon Press, Oxford.
- PETERS, E. K.; MOLDOWAN, J. E. (1993)** The Biomarker Guide: Interpreting Molecular Fossils and Ancient Sediments; Prentice Hall, Englewood Cliffs, N. J., 363 p.

- PHILP, R. P. (1985)** *Fossil Fuel Biomarkers: Applications and Spectra*. Elsevier, New York, 293 p.
- PHILP, R. P.; GILBERT, T. D.; FRIEDERICH, J. (1981)** Bicyclic sesquiterpenoids and diterpenoids in Australian crude oils *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 1173-1180.
- REBOUÇAS, L. M. C. (1992)** *Ácidos naftênicos do Campo Albacora, Bacia de Campos e síntese de biomarcadores*. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas - SP, Brasil.
- RICHARDSON, J. S.; MILLER, D. E. (1982)** Identification of bicyclic and tricyclic hydrocarbons in the saturate fraction of a crude oil by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chem.* **54**, 765-768.
- ROBINSON, N.; EGLINTON, G.; BRASSEL, S. C.; CRANWELL, P. A. (1984)** Dinoflagellate origin for sedimentary 4 α -methylsteroids and 5 α (H)-stanols. *Nature*, **308**, 439-442.
- RULKÖTER, J.; PHILP, R. P. (1981)** Extended hopanes up to C₄₀ in Thornton bitumen. *Nature* **292**, 616-618.
- SANTOS NETO, E. V.; MELLO, M. R.; RODRIGUES, R. (1990)** *Caracterização geoquímica dos óleos da Bacia Potiguar Anais do XXXVI Congresso Brasileiro de Geologia*, 974-985.
- SCHAEFFER, P.; FACHE-DANY, F.; TRENDEL, J. M.; ALBRECHT, P. (1993)** Polar constituents of organic matter rich marls from evaporitic series of the Mulhouse basin. *Org. Geochem.* **20(8)**, 1227-1236.
- SCHAEFFER, P.; FACHE-DANY, F.; TRIFILIEFF, S. TRENDEL, J. M.; ALBRECHT, P. (1994)** Characterization of novel 3-carboxyalkylsteranes occurring in geological samples". *Tetrahedron* **50(44)**, 12633-12642
- SCHMITTER, J. M.; ARPINO, P. ; GUIOCHON, G. (1978)** Investigation of high-molecular-weight carboxylic acids in petroleum by different combinations of chromatography (gas and liquid) and mass spectrometry (electron impact and chemical ionization). *J. Chromatogr.* **167**, 149-158.
- SCHMITTER, J. M.; SUCROW, W.; ARPINO, P. J. (1982)** Occurrence of novel tetracyclic geochemical markers 8,14-seco-hopanes, in a Nigerian crude oil *Geochim. Cosmochim. Acta*, **46**, 2345-2350.
- SCOFIELD, A. L. (1990)** *Nouveaux marqueurs biologiques de sédiments et pétroles riches en soufre: identification et mode de formation*. Tese de Doutorado, L'Université Louis Pasteur, Strasbourg, France, 194 p.

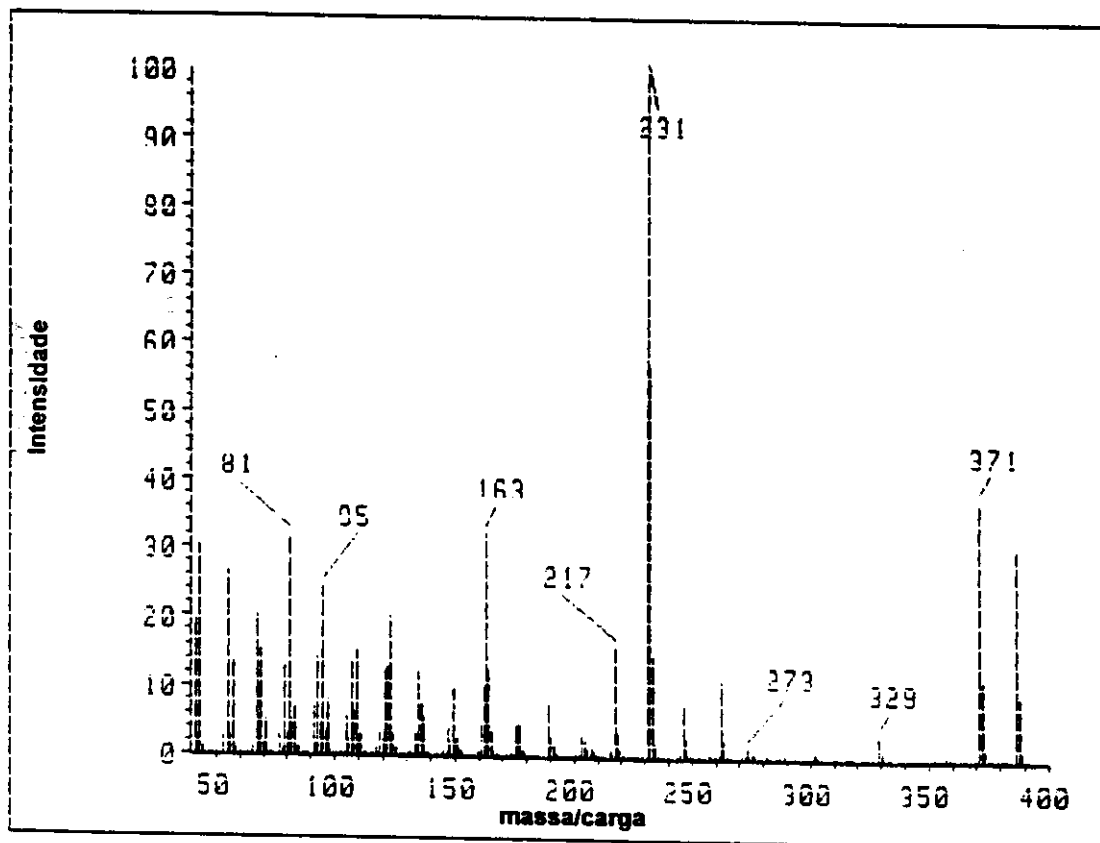
- SEIFERT, W. K. (1975)** *Carboxylic acids in petroleum and sediments. Prog. Chem. Nat. Prod.* **32**, 1-49.
- SEIFERT, W. K.; GALLEGOS, E. J.; TEETER, R. M. (1971)** First identification of a steroid carboxylic acid in petroleum. *Angew. Chem. Internat. Ed.* **10**, 747-751.
- SEIFERT, W. K.; GALLEGOS, E. J.; TEETER, R. M. (1972)** Proof of structure of steroid carboxylic acid in a California petroleum by deuterium labeling, synthesis, and mass spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 5880-5891
- SEIFERT, W. K.; HOWELLS, W. G. (1969)** Interfacially active acids in a California crude oil. Isolation of carboxylic acids and phenols. *Anal. Chem.* **41**, 554-562.
- SEIFERT, W. K.; MOLDOWAN, J. M. (1981)** Paleoreconstruction by biological markers. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 783-794.
- SEIFERT, W. K.; TEETER, R. M.; HOWELLS, W. G.; CANTOW, M. R. (1969)** Analysis of crude oil carboxylic acids after conversion to their corresponding hydrocarbons. *Anal. Chem.* **41**, 1638-1647.
- SOUTO FILHO, J. D. (1994)** Utilização de simulador numérico na análise do processo de migração secundária de petróleo. Tese de Mestrado, UNICAMP, Campinas - SP, Brasil, 164 p.
- SOUZA, S. M. (1982)** Atualização da litoestratigrafia da Bacia Potiguar. In: Congresso Brasileiro de Geologia, 32, Salvador. Anais...Salvador, SBG, **5**, 2392-2406.
- SUMMONS, R. E.; CAPPON, R. J. (1988)** Fossil steranes with unprecedented methylation in ring A. *Geochim. Cosmochim. Acta* **52**, 2733-2736.
- SUMMONS, R. E.; CAPPON, R. J. (1991)** Identification and significance of 3 β -ethyl steranes in sediments and petroleum. *Geochim. Cosmochim. Acta* **55**, 2391-2395.
- TABER, F. D.; DEKER, P. B.; GAUL, M. D. (1987)** Enantioselective construction of dialkylcarbinols: synthesis of (-)-5-hexanodecanolide. *J. Am. Chem. Soc.* **109**, 7488-7494.
- TEXIER-BOULLET, F.; FOUCAUD, A. (1979)** The Wittig-Horner reaction in solid-liquid two phase systems. *Synthesis*, 884-885.
- TISSOT, B. P.; WELTE, D. H. (1984)** *Petroleum formation and occurrence.* Springer Verlag, New York, 538 p.

- TÖKÉS, L.; AMOS, B. (1972)** Electron impact induced stereospecific hydrocarbon fragmentations. Mass spectrometry determination of configuration at C-5 in steroidal hydrocarbons *J. Org. Chem.* **37** (26) 4421-4429.
- TRENDEL, J. M.; RESTLÉ, A.; CONNAN, J.; ALBRECHT, P. (1982)** Identification of a novel series of tetracyclic terpene hydrocarbon (C₂₄-C₂₇) in sediments and petroleums *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 304-306.
- TRIFILIET, S. (1987)** Étude de la structure des fractions polaires de petroles (resines et asphaltènes) par degradation chimique selectives. Tese de Doutorado. L'Université Louis Pasteur, Strasbourg, France.
- TRINDADE, L. A. F (1992)** Geochemical assessment of petroleum migration and mixing in the Potiguar and Sergipe-Alagoas basins, Brazil. PhD Thesis, Stanford University, Stanford, USA.
- TRINDADE, L. A. F. .; BRASSEL, S. C.; SANTOS NETO, E. V. (1992)** Petroleum migration and mixing in the Potiguar Basin, Brazil. *Am. Assoc. Petroleum Geologists Bull.* **76** (12), 1903-1924
- VOLKMAN, J. K. (1986)** A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Org. Geochem.* **9**, 84-89.
- VOLKMAN, J. K.; ALEXANDER, R.; KAGO, R. I.; RULLKÖTER, J. (1983)** GC-MS characterization of C₂₇ and C₂₈ triterpanes in sediments and petroleum. *Geochim. Cosmochim. Acta* **47**, 1033-1040.
- WAPLES, D. W.; HAYG, P.; WELTE, D. H. (1974)** Occurrence of a regular C₂₅ isoprenoid hydrocarbon in tertiary sediments representing a lagoonal-type, saline environment. *Geochim. Cosmochim. Acta* **38**, 381-387.
- WELT, D. H. (1963)** Distribution of long chain n-parafins and n-fatty acids in sediments from Persian Gulf. *Geochim. Cosmochim. Acta* **32**, 465-473.
- WESTON, R. J.; PHILP, R. P.; SHEPPARD, C. M.; WOOLHOUSE, A. D. (1989)** Sesquiterpanes, diterpanes and other higher terpanes in oils from the Taranaki Basin of New Zealand. *Org. Geochem.* **14**, 405-421.
- WOLF, G. A.; LAMB, N. A.; MAXWELL, J. R. (1986)** The origin and fate of 4-methyl steroid hydrocarbons *J. 4-methyl sterenes. Geochim. Cosmochim. Acta* **50**, 335-342.
- YAN, S. J.; MACKENZIE, A. S.; ALEXANDER, R.; EGLINTON, G.; GOWAR, A. P.; WOLFF., G. A. MAXWELL, J. R. (1982)** A biological marker investigation of petroleum and shales from the Shengli oilfield, The Peoples's Republic of China. *Chem. Geol.* **35**, 1-31.

ZARETSKII, Z. V. I.; KELNER, L. (1975) Mass spectrometry of steroid systems - XXJJ; appearance-ionization potential differences as a guide to the relative stabilities of the cis- and trans-A/B-steroids. *Tetrahedron*. **31**, 85-87.

ZHUSHENG, J.; FOWLER, M. C.; LEWIS, C. A.; PHILP, R. P. (1990) Polycyclic alkanes in a biodegraded oil from the Kelamayi oil field, Northwestern China. *Org. Geochem.* **15**, 35-40.

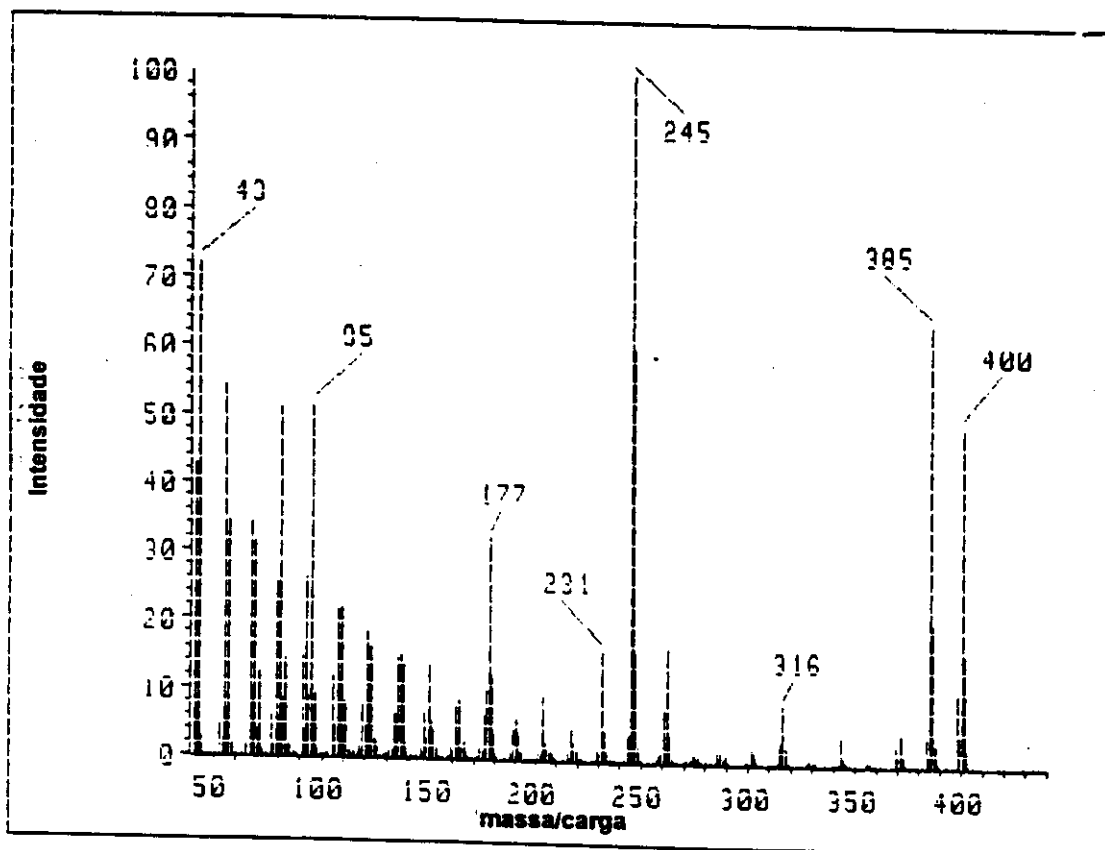
**IX. APÊNDICE A:
ESPECTROS DE MASSAS, DE RMN ¹H E RMN ¹³C
DOS PADRÕES**



Scan 15.935 min. of DATA:TM.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	19.29	95.15	24.25	164.15	12.43
43.15	39.39	107.15	13.55	217.25	15.99
55.15	25.45	109.15	15.23	231.25	100.00
57.15	13.97	121.15	12.29	232.25	55.93
67.15	29.13	122.15	12.94	233.25	14.62
69.15	15.15	123.15	29.13	262.35	11.19
79.15	13.82	135.15	12.29	371.45	37.83
81.15	31.54	162.15	19.29	372.45	11.37
93.15	14.23	163.15	32.33	385.45	39.63

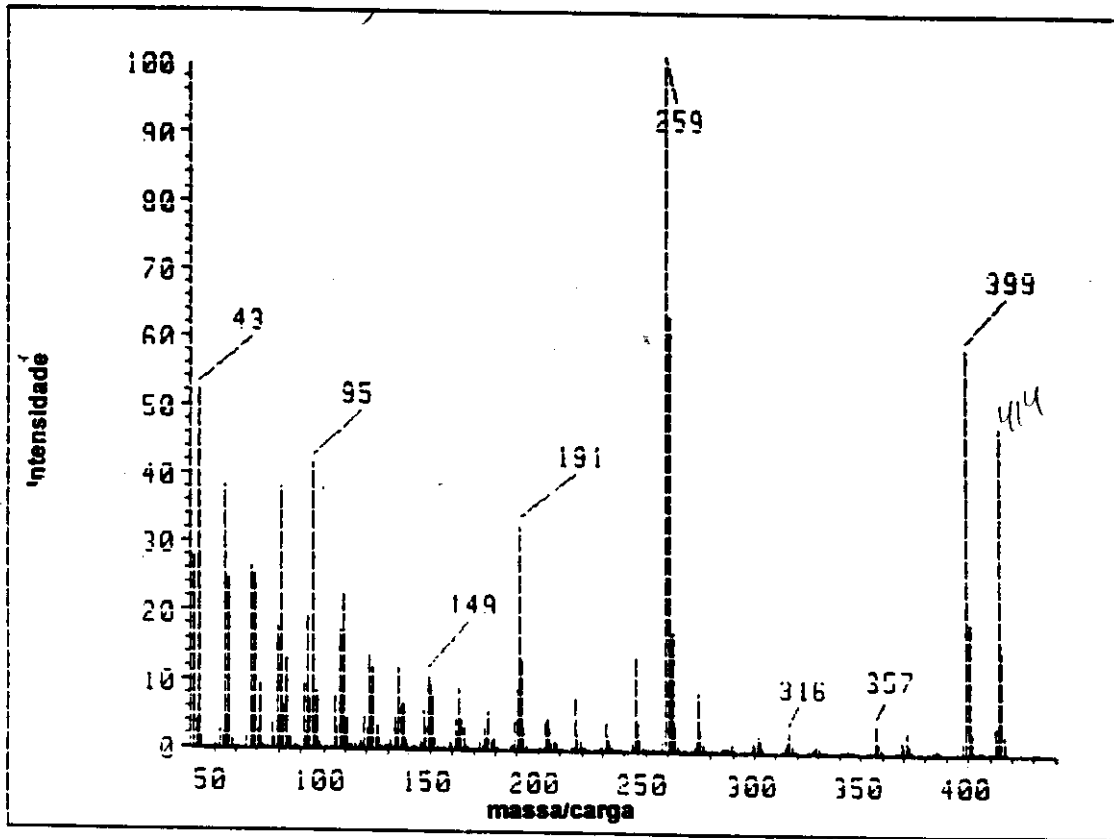
Figura 62: Espectro de Massas do 3 β -Metil-5 α (H)-Colestano



Scan 17.464 min. of DATA:TE.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	42.60	105.15	11.70	179.25	12.15
43.15	71.97	107.15	21.41	231.25	15.72
55.15	64.07	109.15	10.27	245.25	100.00
67.15	34.77	109.15	21.64	246.25	60.10
67.15	34.12	121.15	19.05	247.25	15.59
69.15	31.71	122.15	10.75	262.25	16.55
71.15	12.21	123.15	15.99	305.45	63.95
79.15	25.33	135.15	14.41	306.45	20.39
81.15	50.90	136.15	14.91	309.45	10.51
83.15	14.05	137.15	13.39	400.45	49.59
81.15	14.30	149.15	13.51	401.45	15.05
93.15	25.15	175.25	10.05		
95.15	51.99	177.25	32.14		

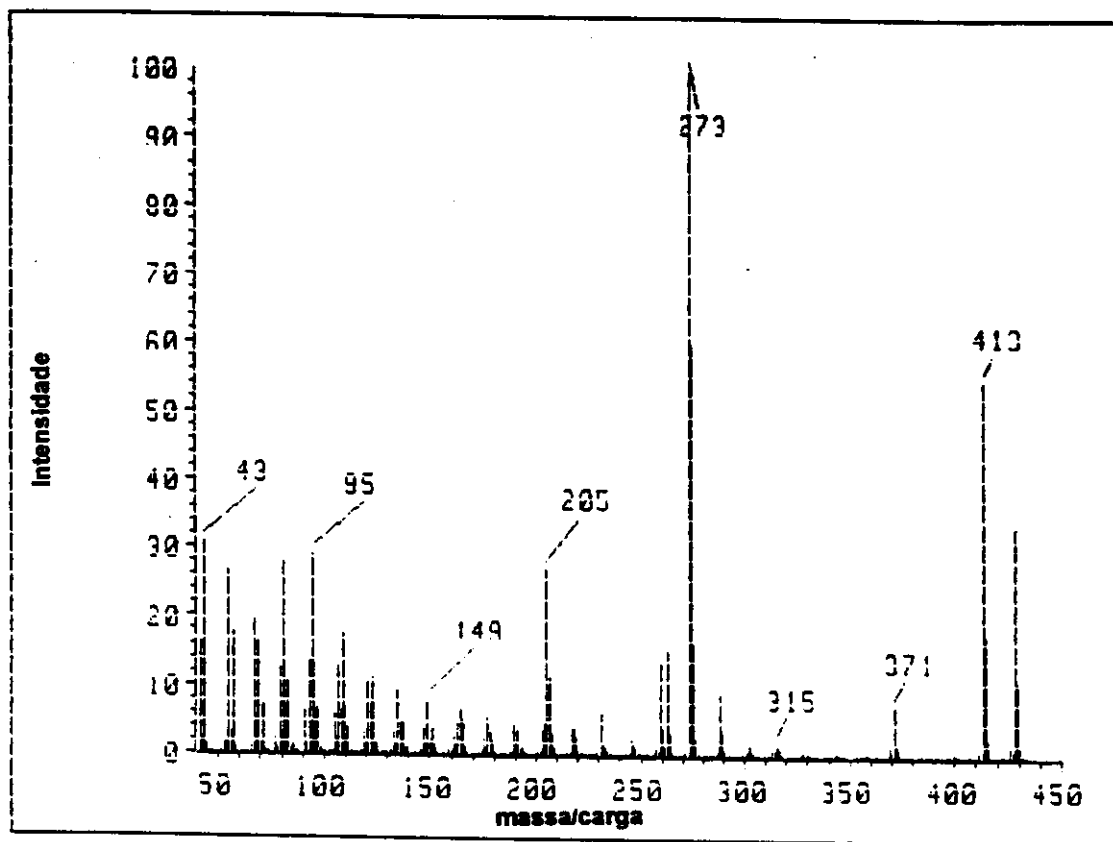
Figura 63: Espectro de Massas do 3β -Etil- 5α (H)-Colestano



- Scan 19.966 min. of DATA:TP.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.05	27.69	95.15	41.36	259.25	100.00
43.15	52.05	107.15	17.05	260.25	53.27
55.15	38.13	109.15	22.60	261.25	17.05
57.15	24.45	121.15	13.39	262.25	17.05
67.15	25.30	123.15	11.53	309.45	59.91
69.15	25.12	135.15	11.55	400.45	18.95
79.15	17.71	149.15	19.59	414.45	47.35
91.15	37.91	191.15	32.49	415.45	14.57
93.15	12.97	192.15	12.90		
93.15	19.11	245.25	13.75		

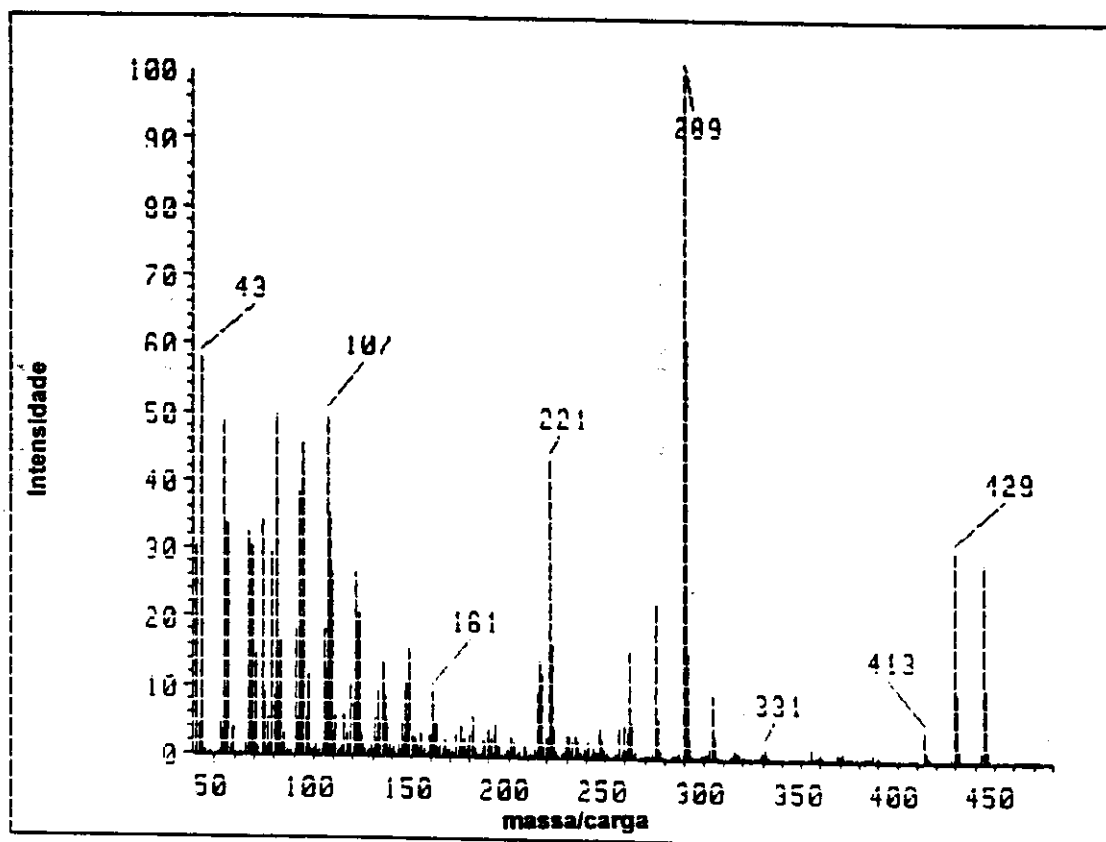
Figura 64: Espectro de Massas do 3β -n-Propil- 5α (H)-Colestano



Scan 20.923 min. of DATA:TB.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	16.24	93.15	13.62	262.35	15.19
43.15	30.79	95.15	29.00	273.35	100.00
65.15	26.69	107.15	12.76	274.35	59.10
67.15	17.67	109.15	17.47	276.35	16.20
67.15	19.25	121.15	10.67	413.55	54.91
69.15	16.15	123.25	11.20	414.55	17.62
70.15	12.62	205.25	26.95	420.55	33.47
91.15	27.95	206.25	11.25	420.55	10.97
93.15	10.67	259.35	13.62		

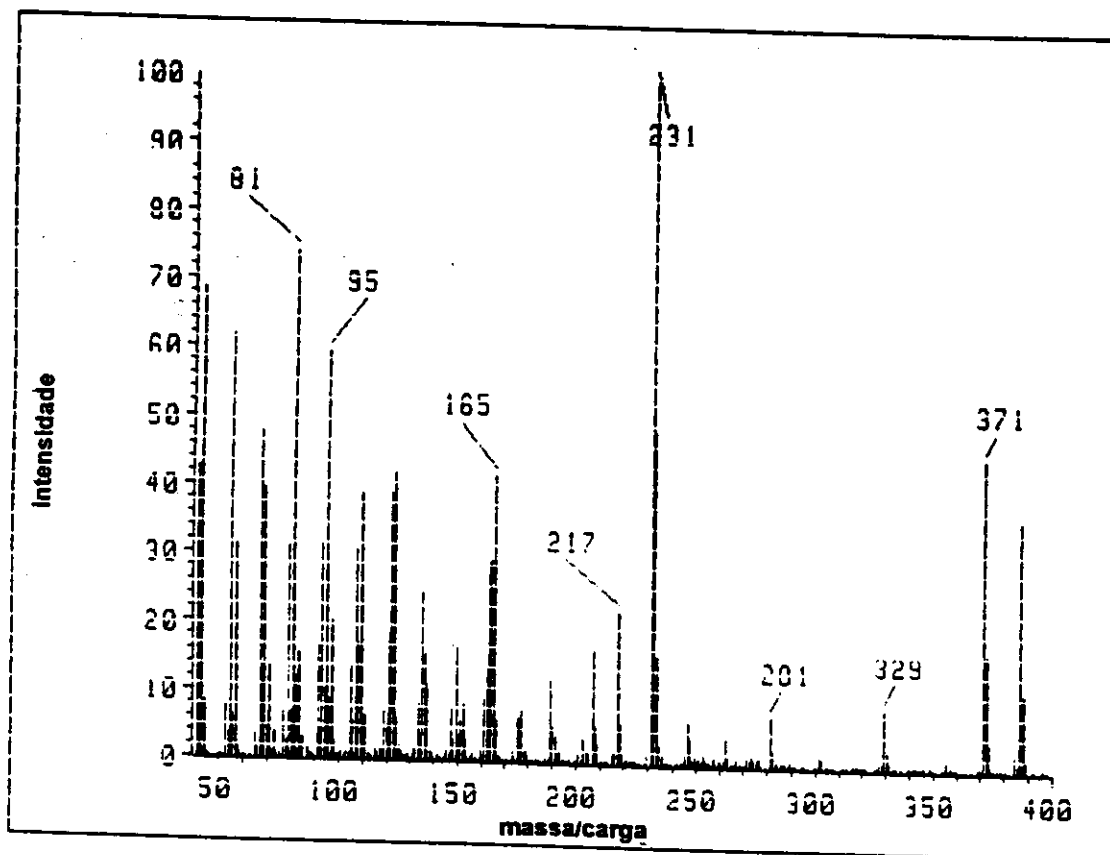
Figura 65: Espectro de Massas do 3 β -n-Butil-5 α (H)-Colestano



Scan 18.823 min. of DATA:TRANSEST.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	30.33	91.20	49.51	221.30	43.12
43.15	57.79	93.15	39.21	275.35	22.32
55.10	49.70	95.15	45.32	289.40	100.00
57.10	33.40	107.20	49.50	290.45	51.05
57.15	32.39	108.20	35.04	429.50	30.50
59.15	30.24	109.20	25.55	444.55	29.90
71.05	33.91	121.15	25.45		
79.20	29.29	123.25	20.50		

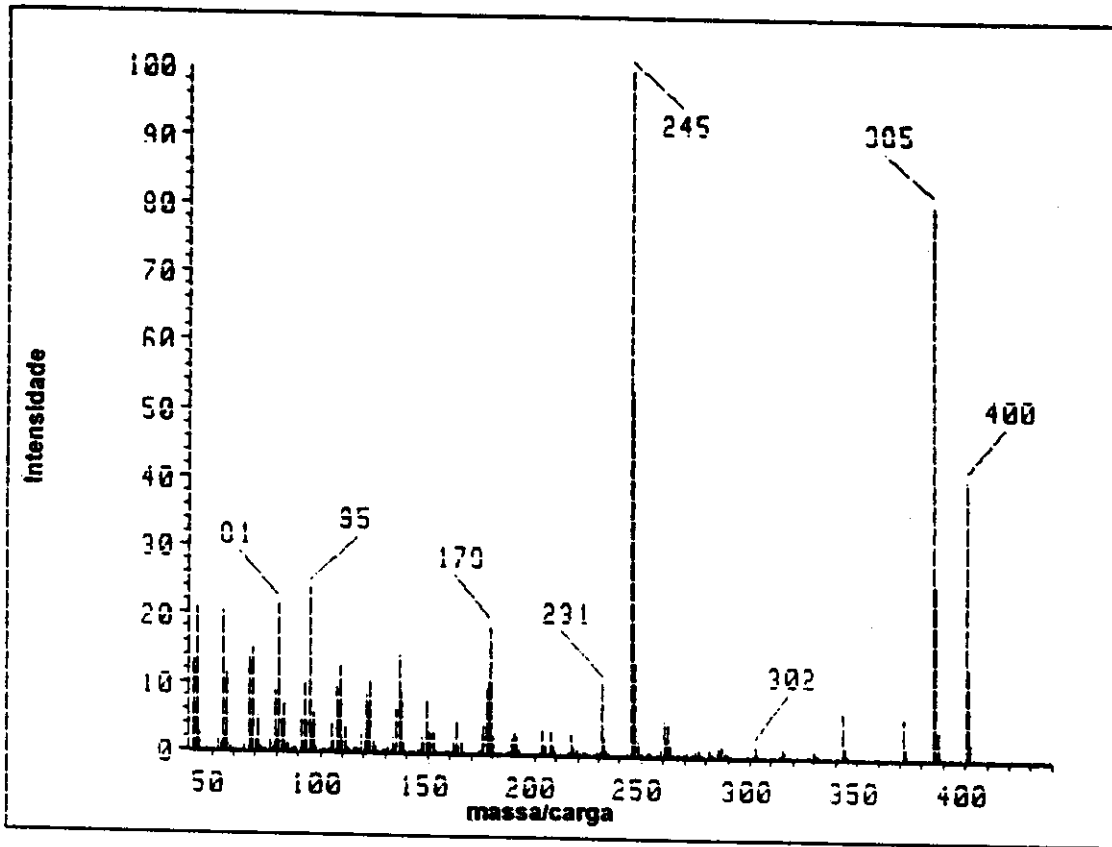
Figura 66: Espectro de Massas do [5 α (H)-Colest-3 β -il]-Acetato de Metila



Scan 15.139 min. of DATA:CM.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	42.79	93.15	31.57	163.15	29.09
43.15	59.51	95.15	59.25	164.15	29.25
55.15	51.72	97.15	29.04	165.15	41.54
57.15	31.23	107.15	39.55	217.25	22.05
57.15	47.59	109.15	39.91	231.25	100.00
59.15	39.55	122.15	39.91	232.25	49.49
70.15	31.25	123.15	41.97	371.45	45.42
81.15	74.92	135.15	24.31	395.45	36.36

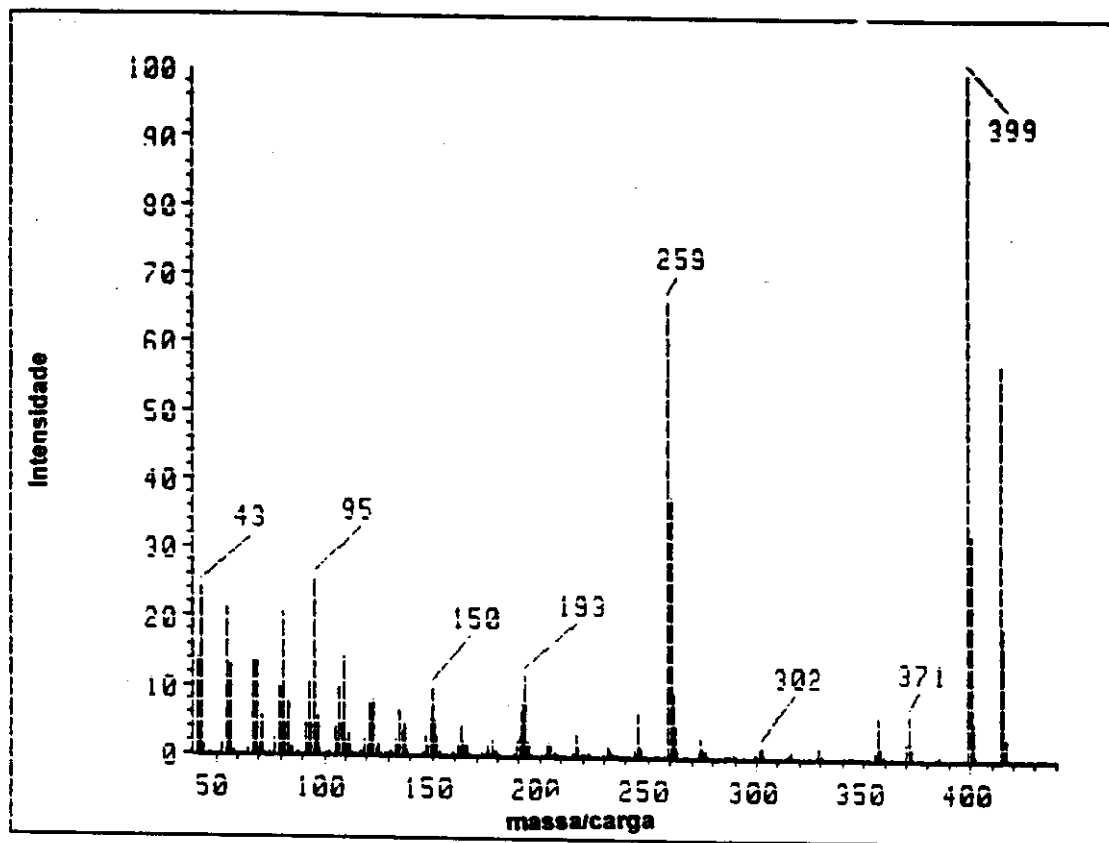
Figura 67: Espectro de Massas do 3α -Metil- 5β (H)-Colestano



Scan 16.262 min. of DATA.CE.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	13.22	95.15	23.97	245.25	100.00
43.15	20.99	109.26	12.49	246.25	53.05
55.10	20.29	123.15	10.17	247.25	13.44
57.10	11.21	135.20	14.07	385.55	80.74
57.15	13.44	179.25	10.33	386.55	25.33
59.15	14.90	179.25	10.25	400.50	40.91
91.20	21.41	231.30	10.44	401.50	13.04

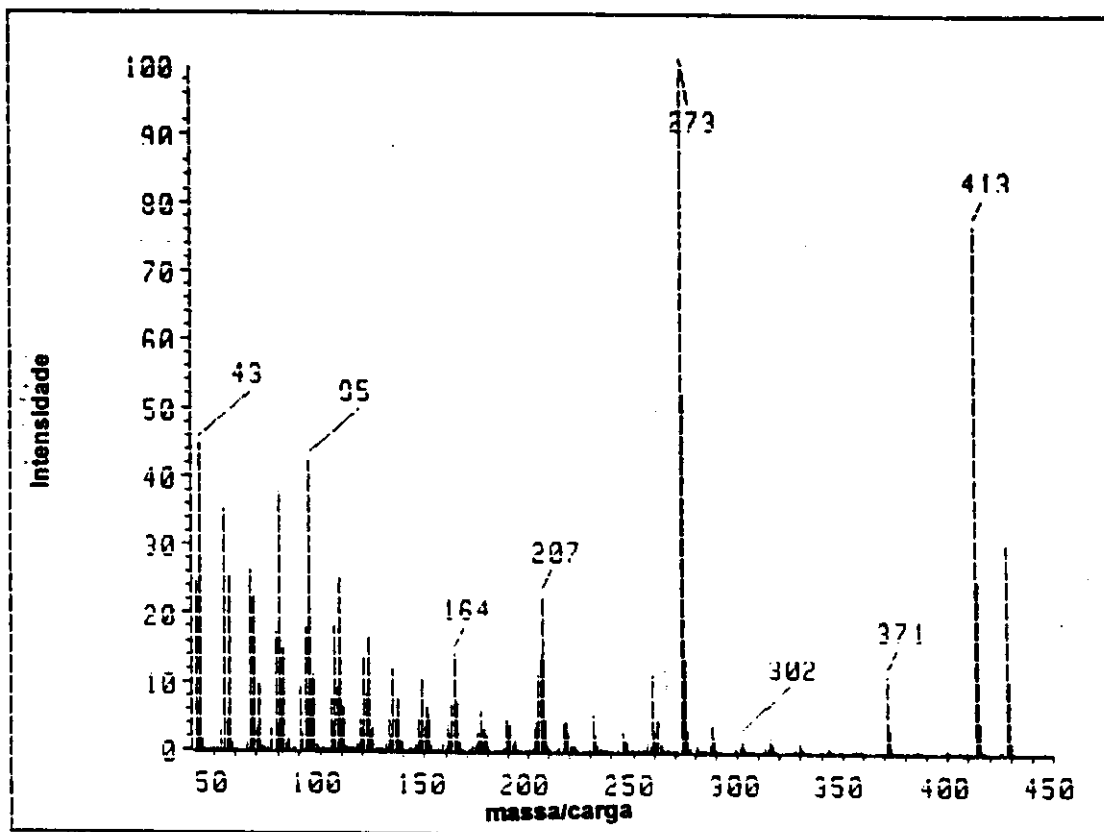
Figura 68: Espectro de Massas do 3 α -Etil-5 β (H)-Colestano



Scan 16.328 min. of DATA:CP.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	13.95	91.15	20.68	259.20	37.93
43.15	24.14	93.15	11.03	399.40	100.00
55.15	21.09	95.15	25.34	400.40	32.50
57.15	12.94	109.15	14.12	414.45	57.41
59.15	13.55	193.20	11.55	415.45	19.22
69.15	13.41	259.20	55.27		

Figura 69: Espectro de Massas do 3α -n-Propil- 5β (H)-Colestano



Scan 18.956 min. of DATA:CB.D

AMU.	Abundance	AMU.	Abundance	AMU.	Abundance
41.15	24.45	97.15	10.91	259.25	11.20
43.15	44.51	107.15	10.19	273.25	100.00
55.15	35.14	109.15	25.19	274.25	52.35
57.15	25.25	121.15	13.72	275.25	13.46
57.15	26.23	123.15	15.50	371.45	11.17
69.15	22.35	135.15	12.01	413.55	75.00
79.15	17.19	149.15	10.79	414.55	25.12
81.15	37.71	164.25	14.14	429.55	30.51
93.15	14.72	205.25	11.14	429.55	10.51
93.15	17.95	206.25	13.90		
95.15	42.25	207.25	22.72		

Figura 70: Espectro de Massas do 3α -n-Butil- 5β (H)-Colestano

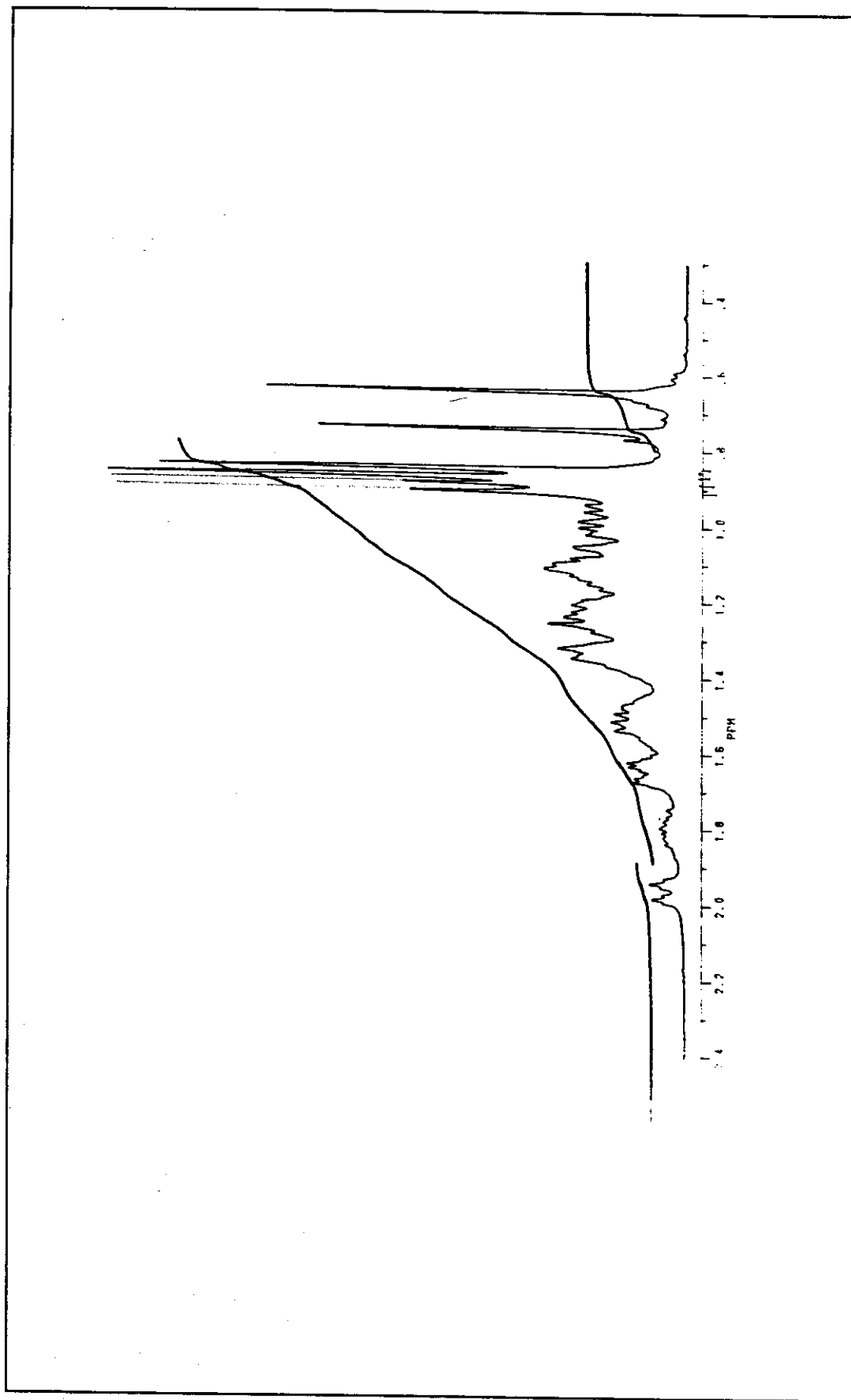


Figura 71: Espectro de RMN ^1H do 3 β -Metil-5 α (H)-Colestano

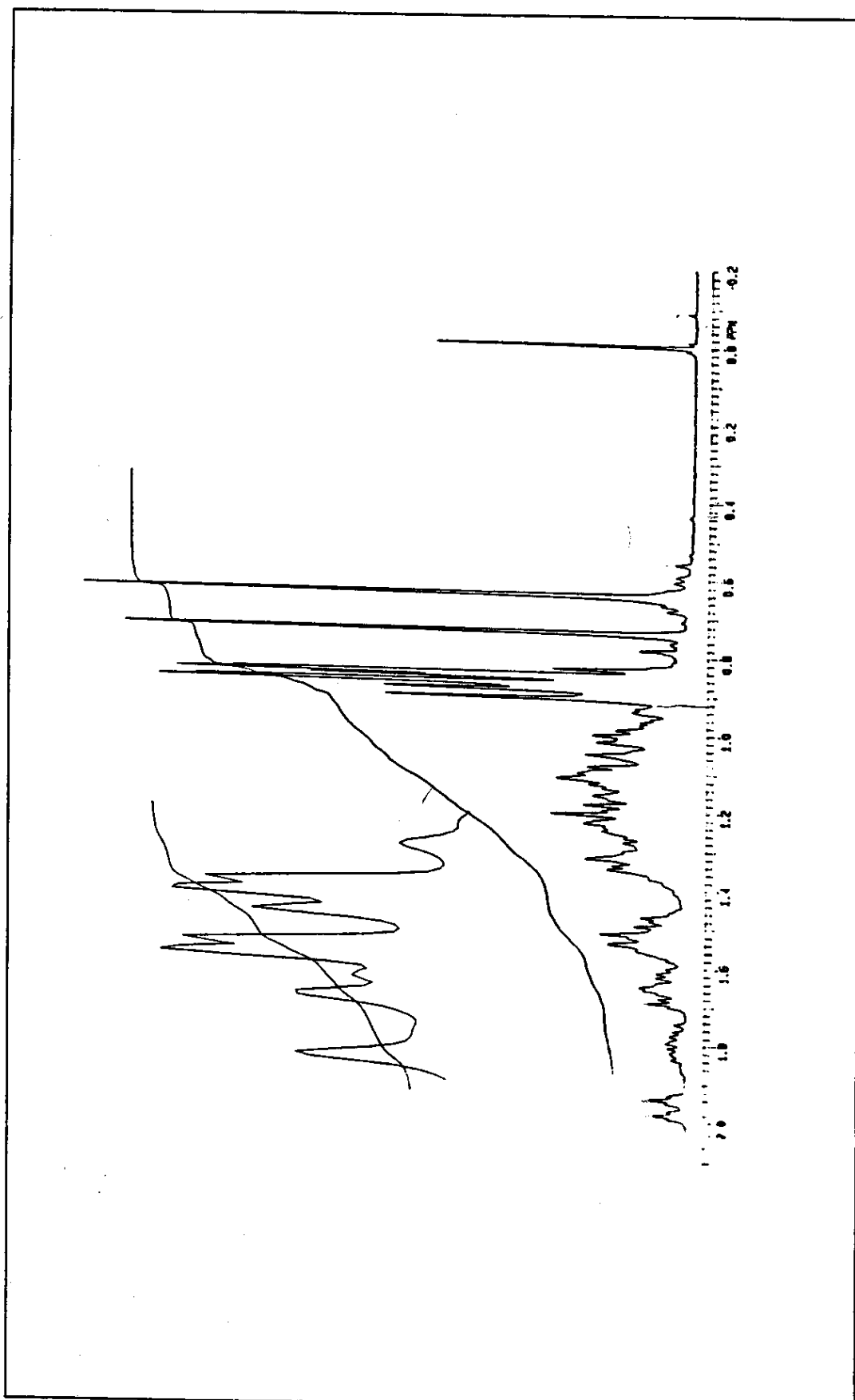


Figura 72: Espectro de RMN ^1H do 3 β -Etil-5 α (H)-Colestano

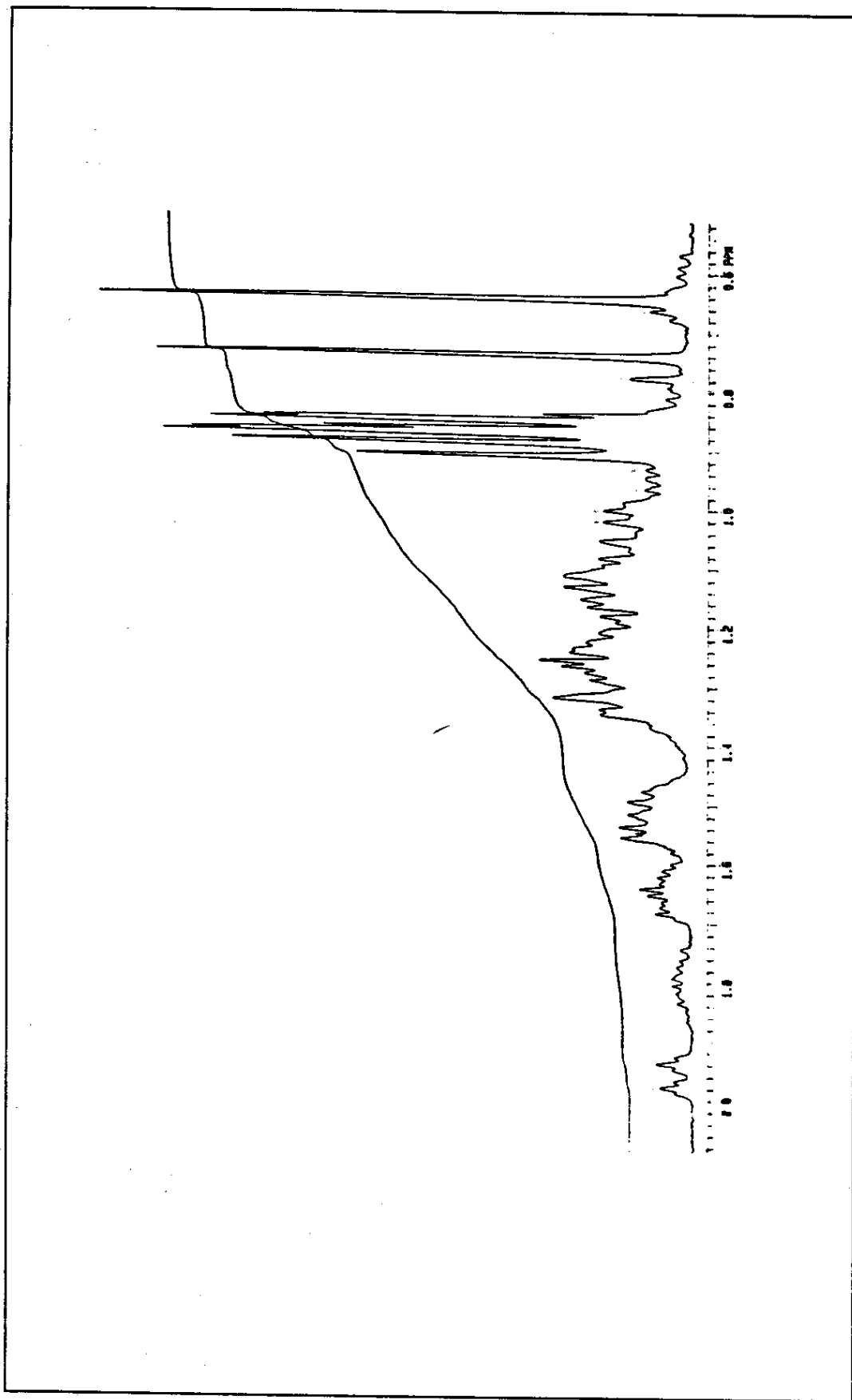


Figura 73: Espectro de RMN ^1H do 3 β -n-Propil-5 α (H)-Colestano

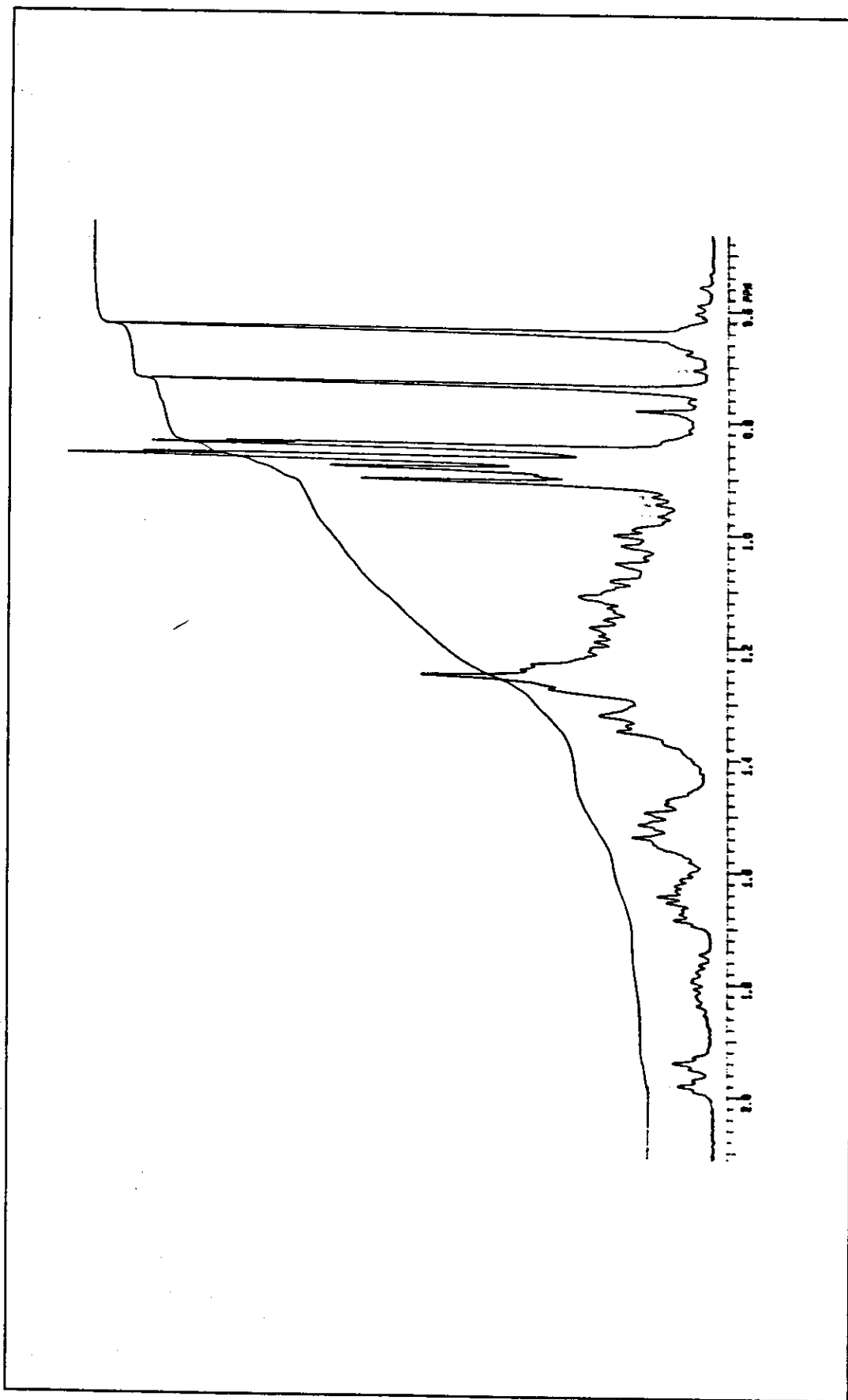


Figura 74: Espectro de RMN ^1H do $3\beta\text{-n-Butil-5}\alpha(\text{H})\text{-Colestano}$

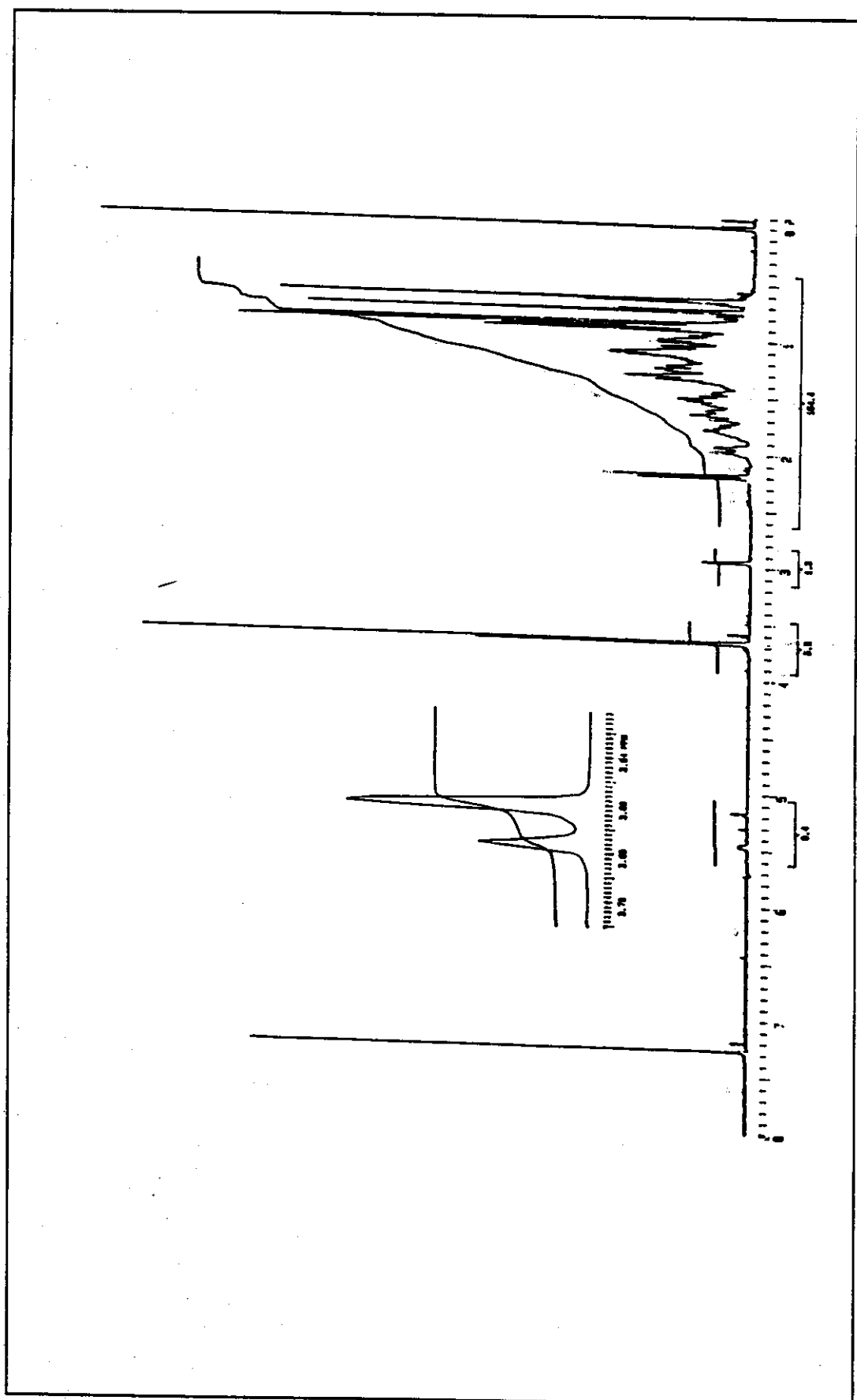


Figura 75: Espectro de RMN ^1H do [5 α (H)-Colest-3 β (H)]-Acetato de Metila

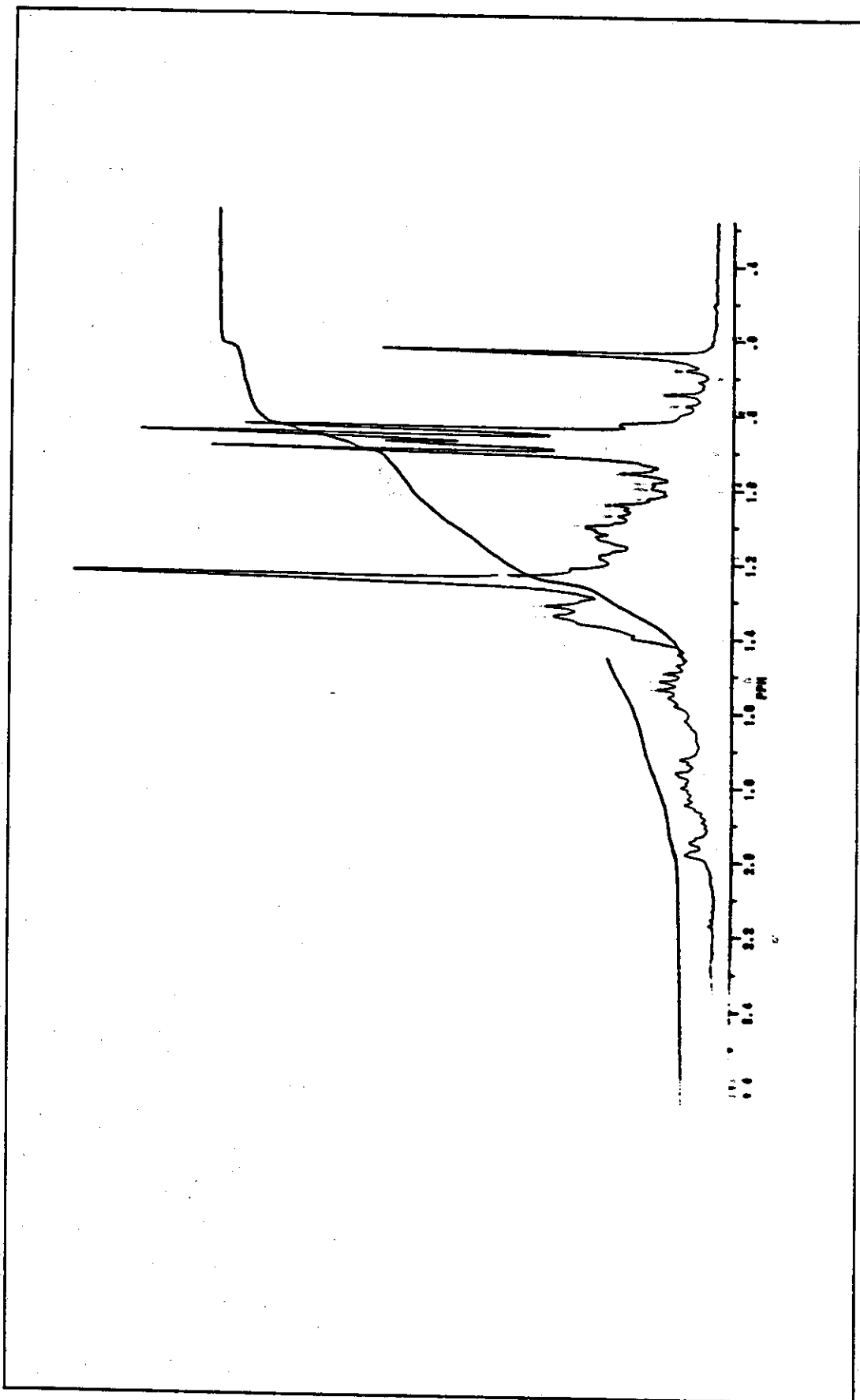


Figura 76: Espectro de RMN ^1H do 3 α -Metil-5 β (H)-Colestano

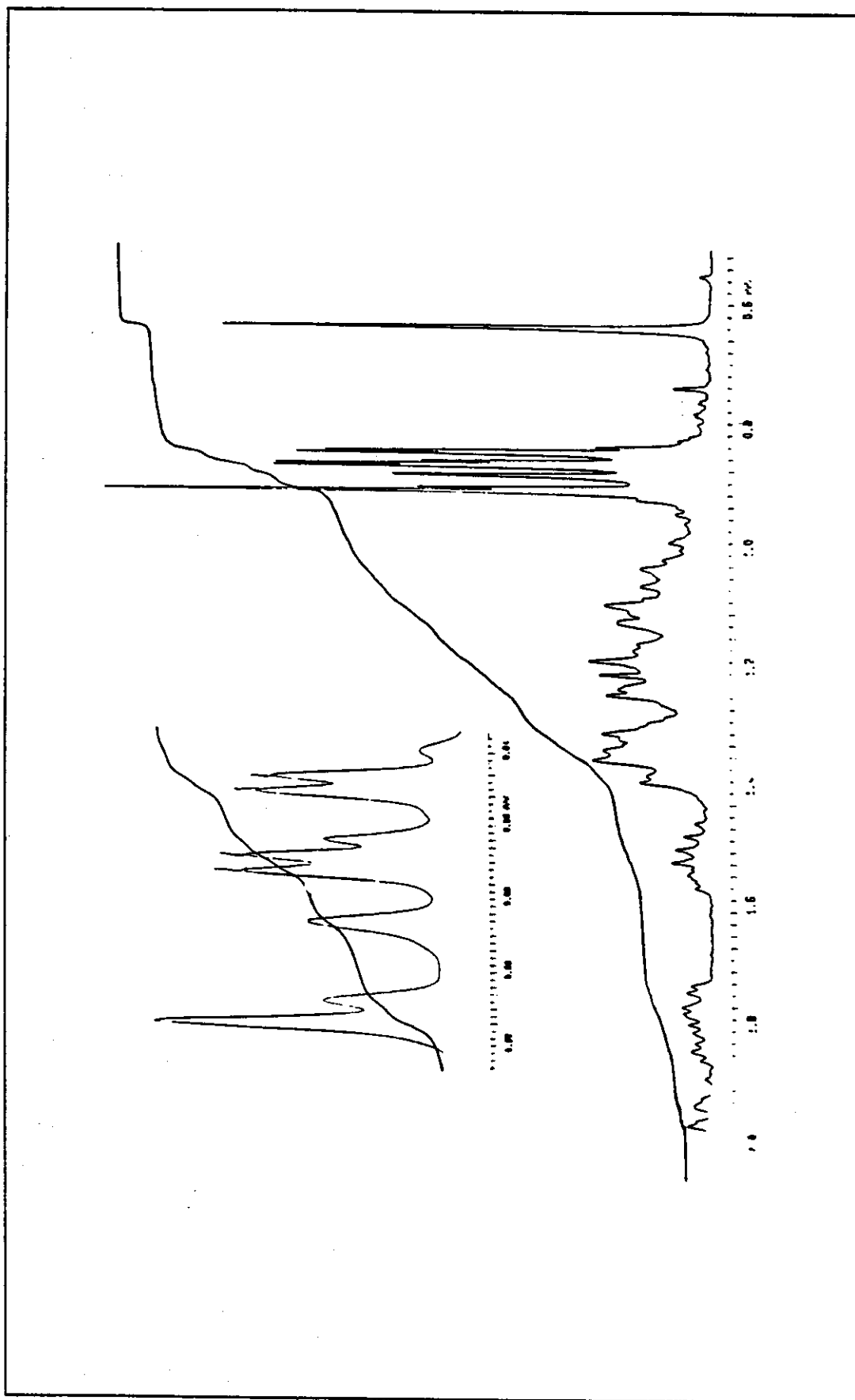


Figura 77: Espectro de RMN ^1H do 3 α -Etil-5 β (H)-Colestano

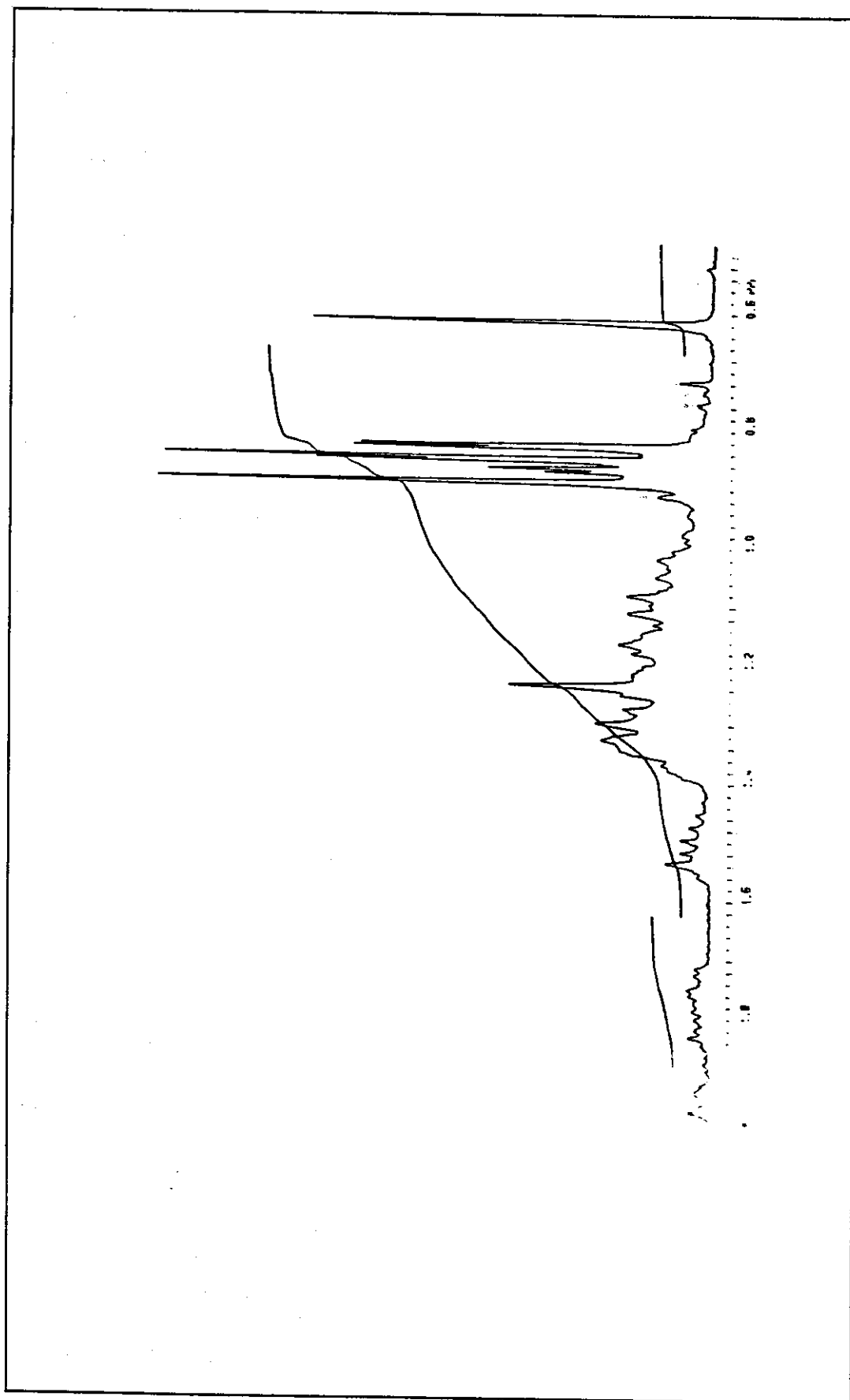


Figura 78: Espectro de RMN ^1H do $3\alpha\text{-n-Propil-}5\beta(\text{H})\text{-Colestano}$

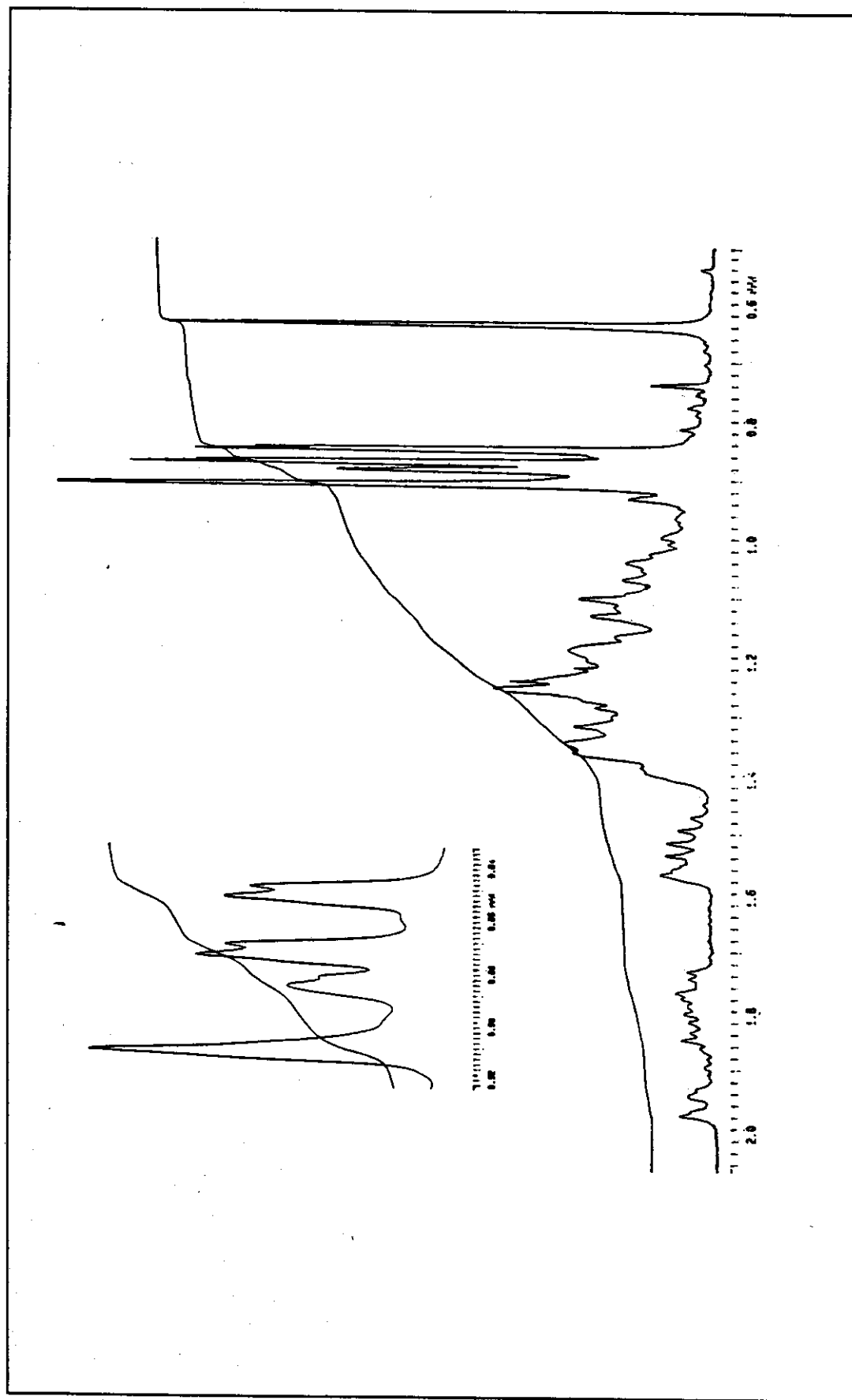


Figura 79: Espectro de RMN ^1H do 3 α -n-Butil-5 β (H)-Colestano

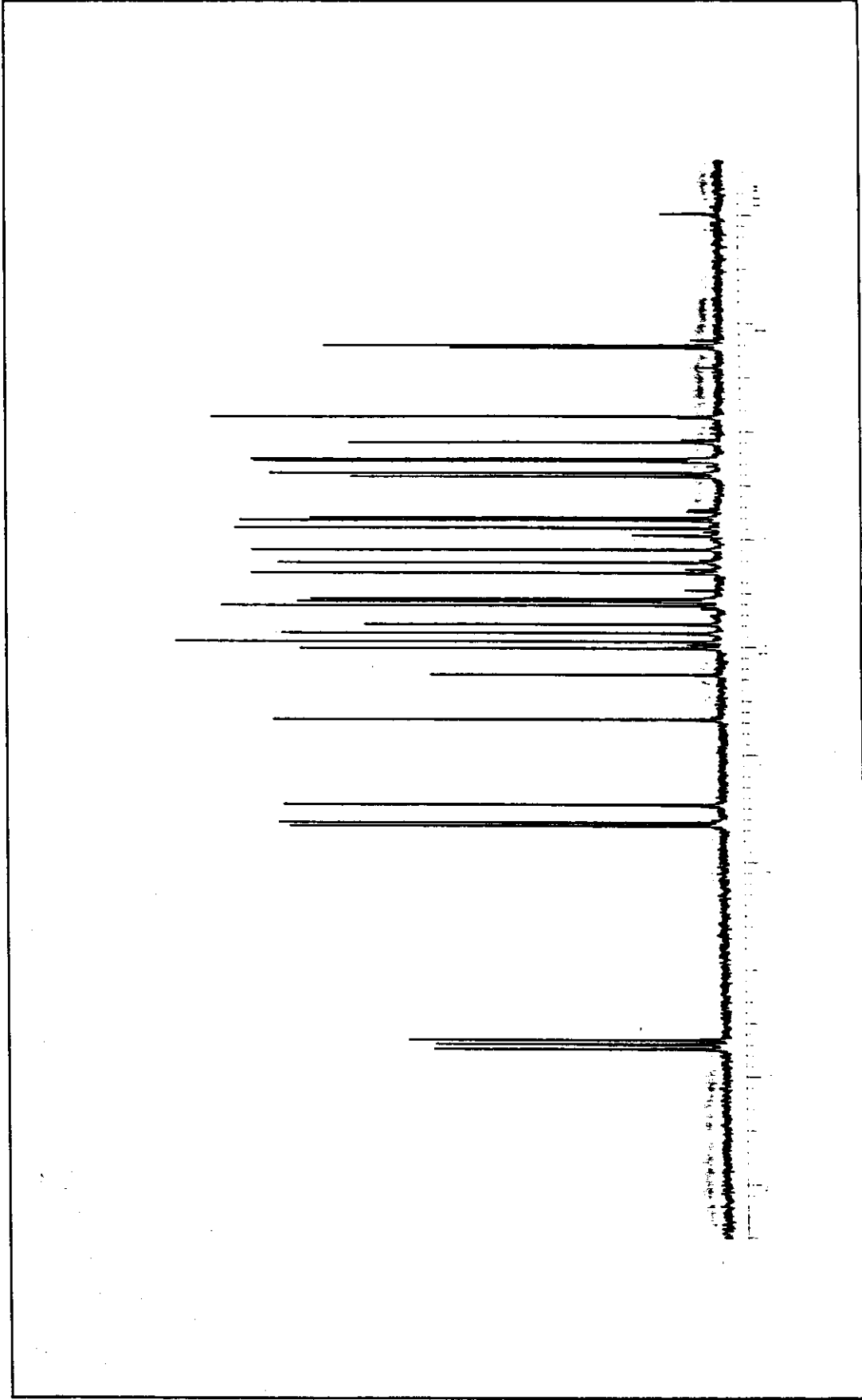


Figura 80: Espectro de RMN ^{13}C do 3 β -Metil-5 α (H)-Colestano

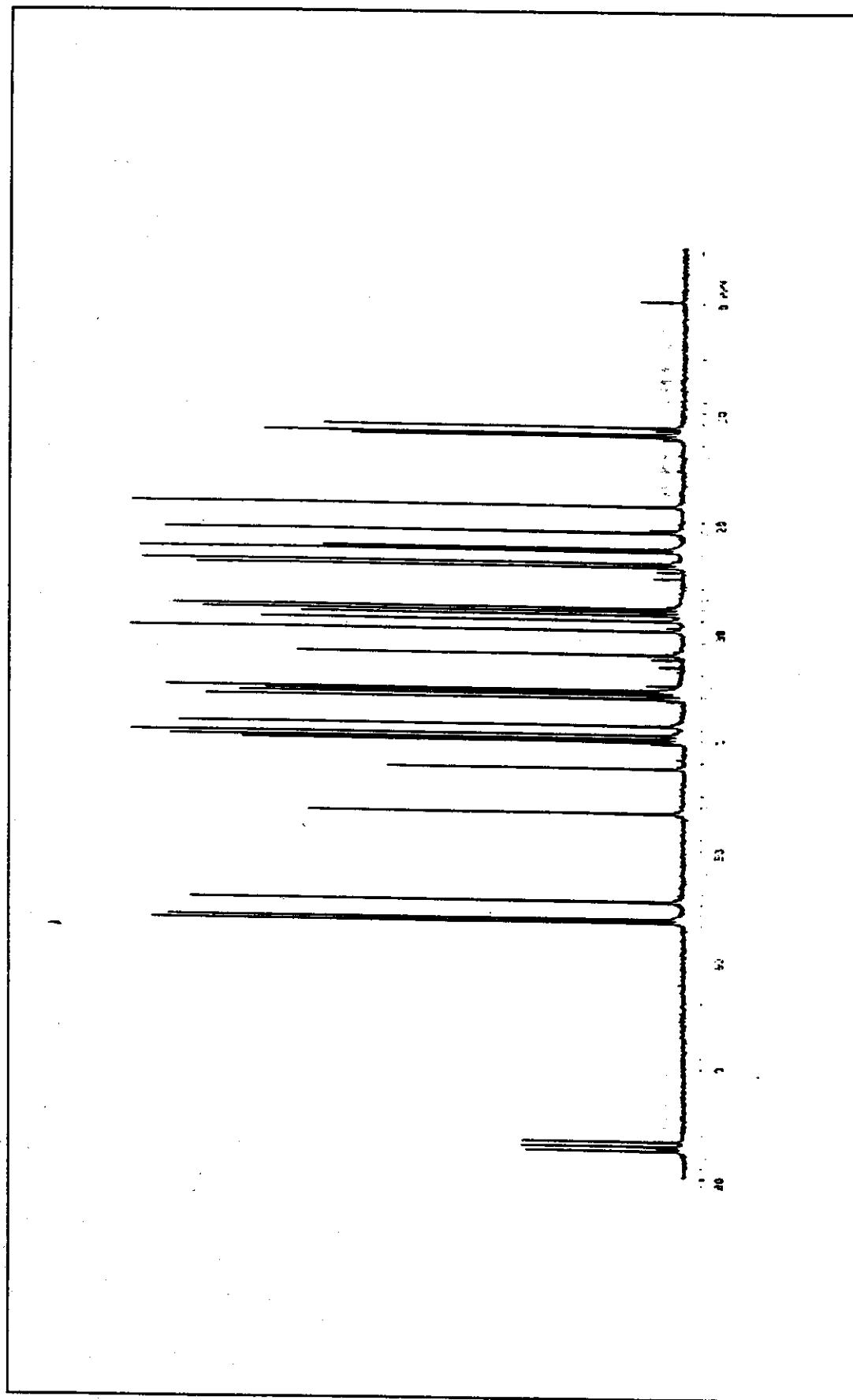


Figura 81: Espectro de RMN ^{13}C do 3 β -Etil-5 α (H)-Colestano

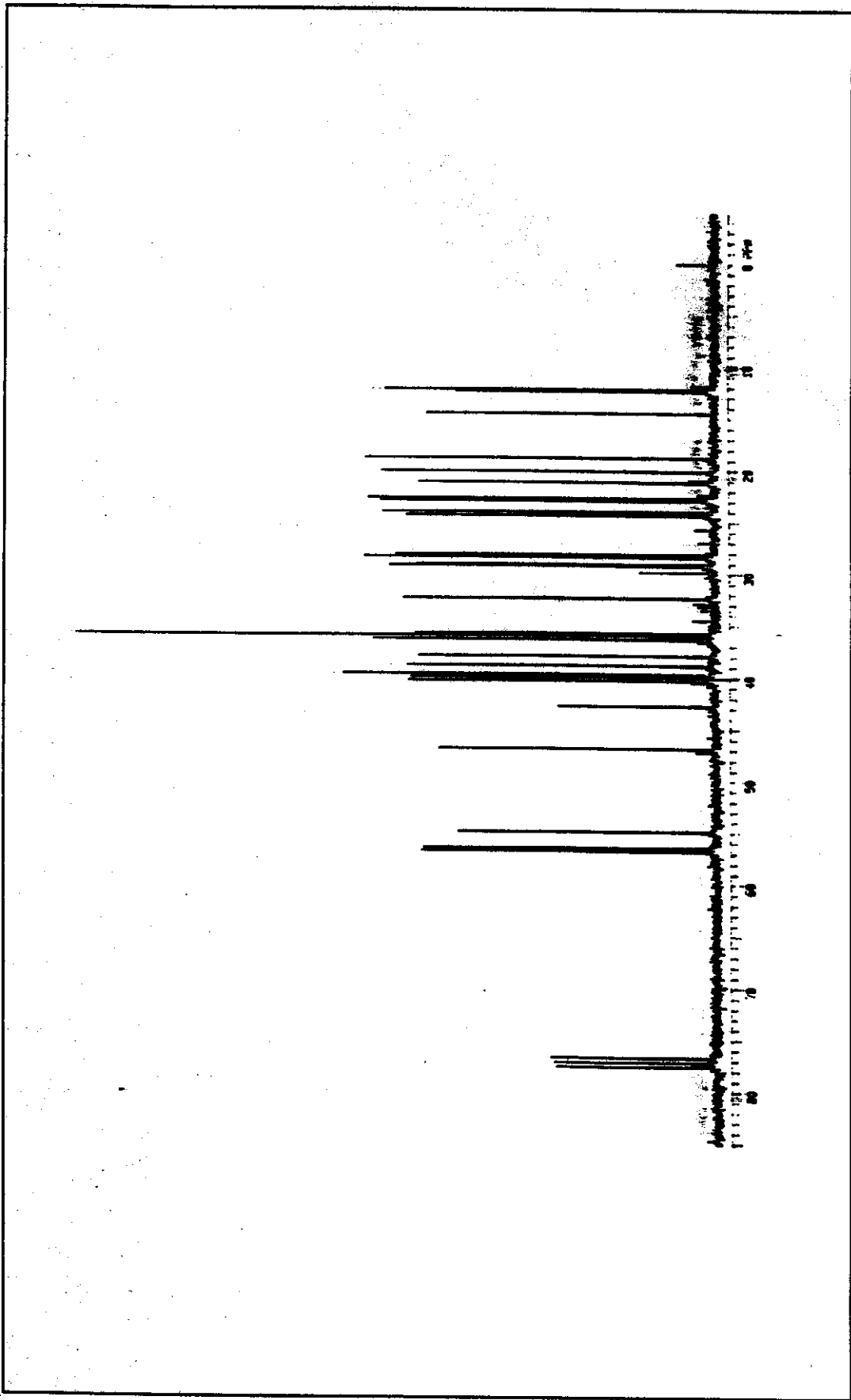


Figura 82: Espectro de RMN ^{13}C do 3 β -n-Propil-5 α (H)-Colestano

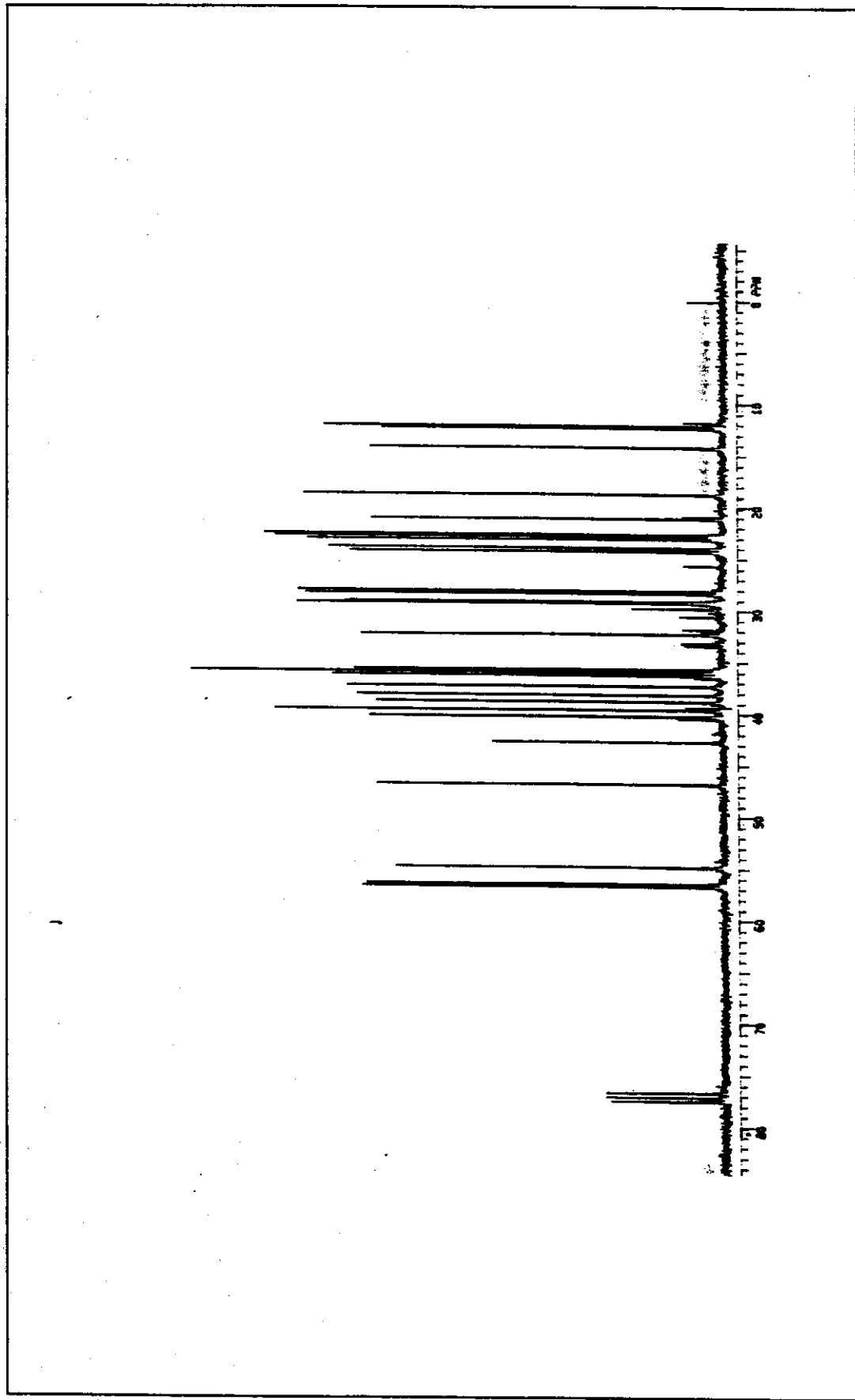


Figura 83: Espectro de RMN ^{13}C do 3β-n-Butil-5α(H)-Colestano

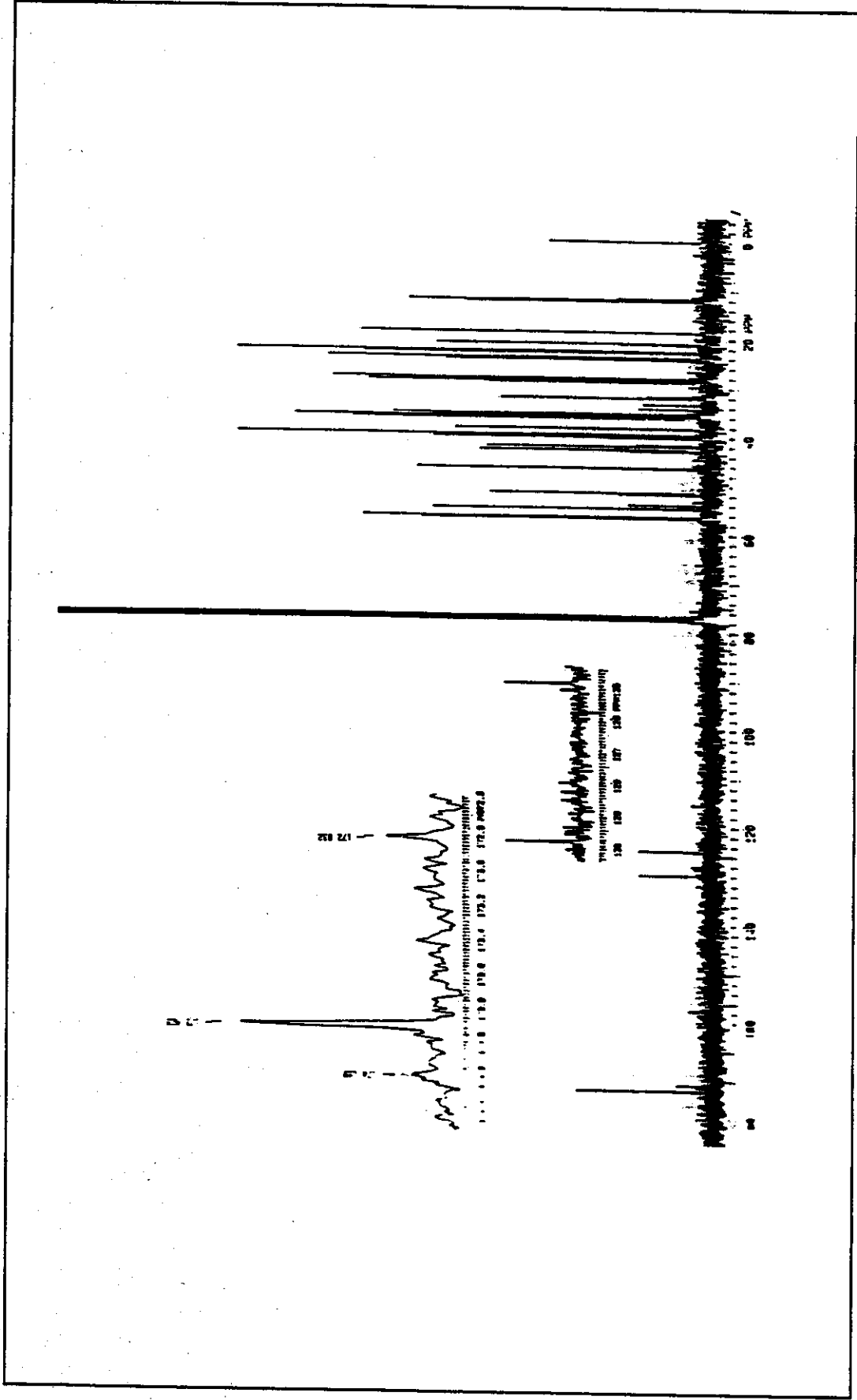


Figura 84: Espectro de RMN ^{13}C do [5 α (H)-Colest-3 β -(H)-Acetato de Metila]

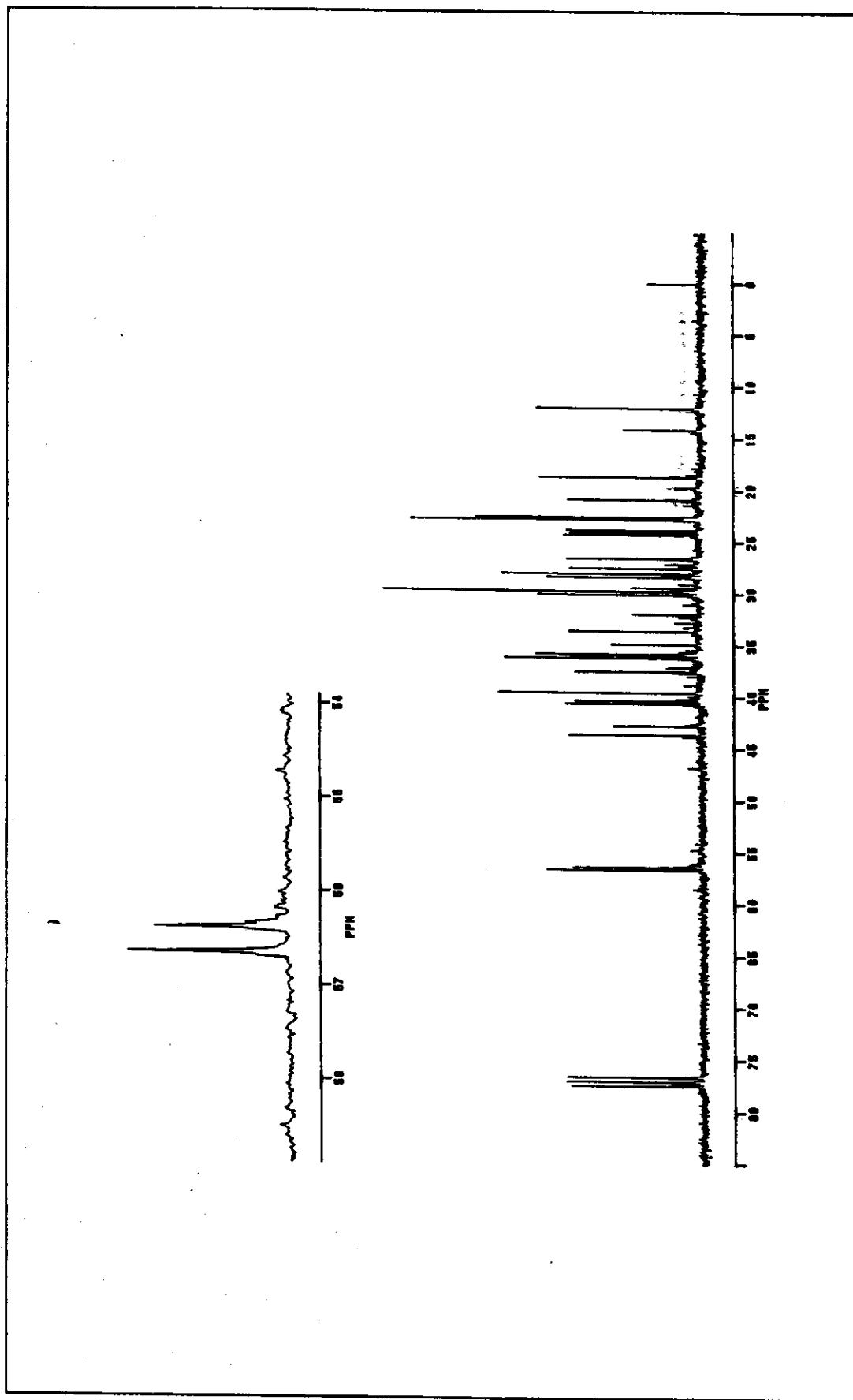


Figura 85: Espectro de RMN ^{13}C do 3 α -Metil-5 β (H)-Colestano

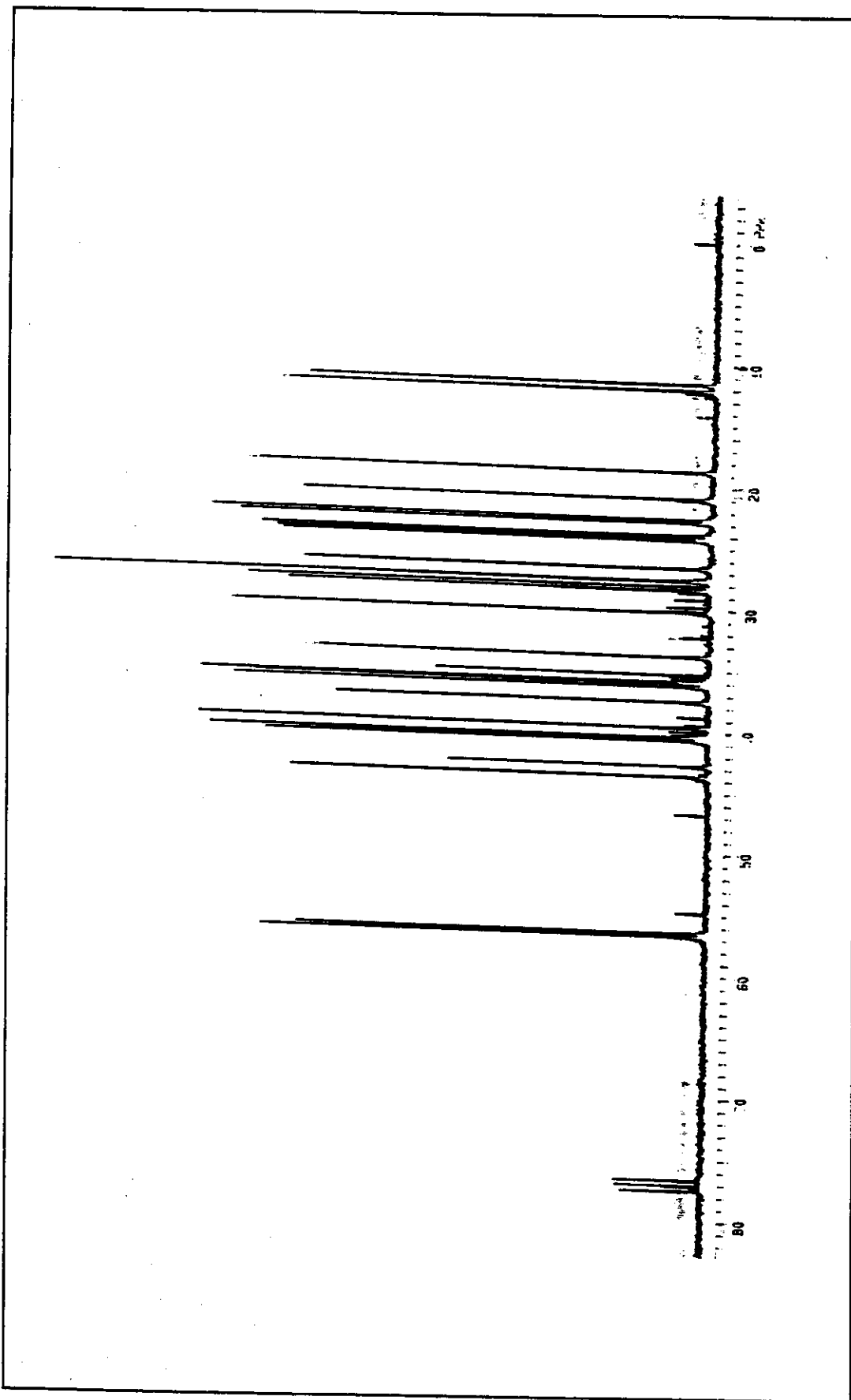


Figura 86: Espectro de RMN ^{13}C do 3 α -Etil-5 β (H)-Colestano

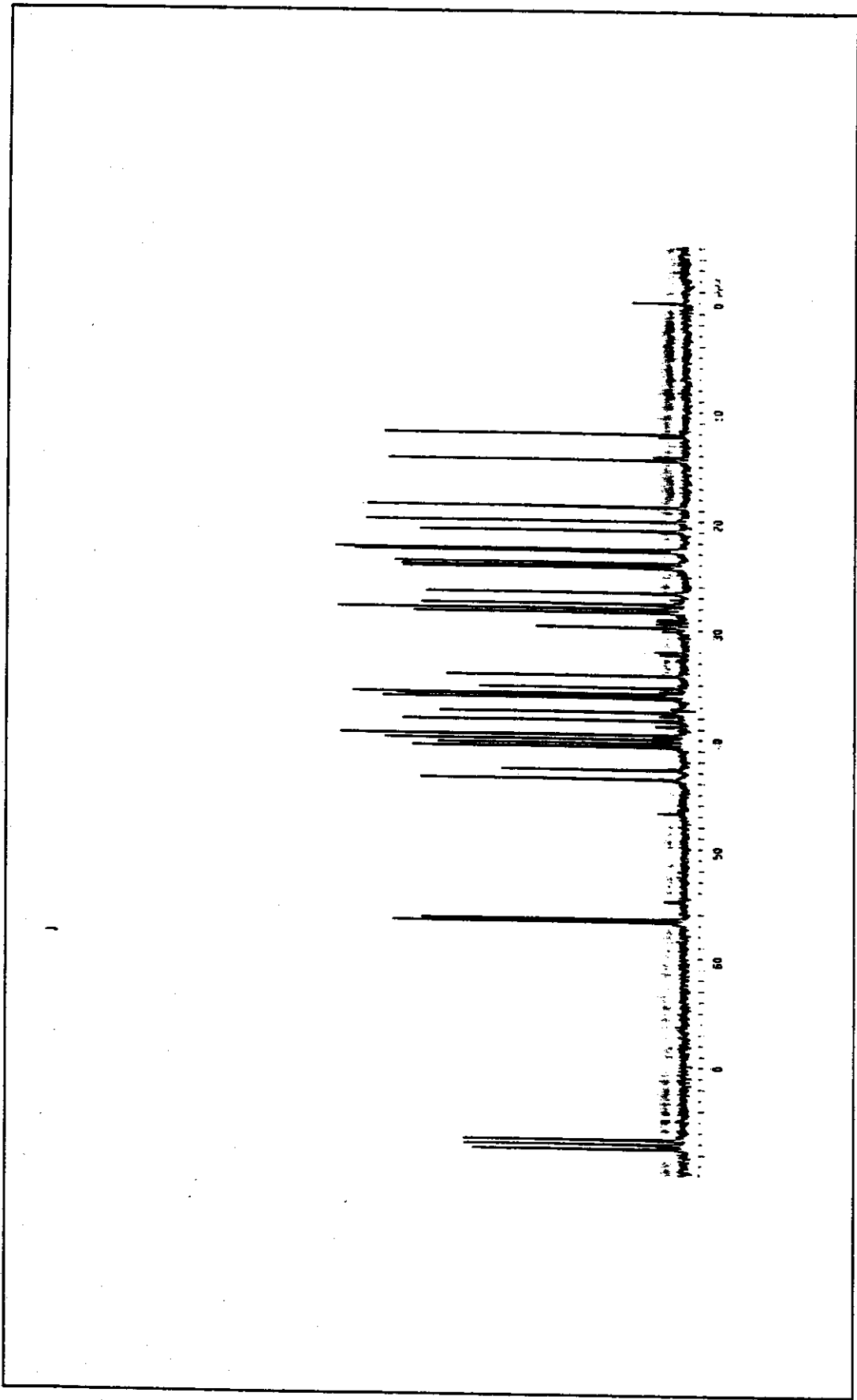


Figura 87: Espectro de RMN ^{13}C do $3\alpha\text{-n-Propil-}5\beta(\text{H})\text{-Colestano}$

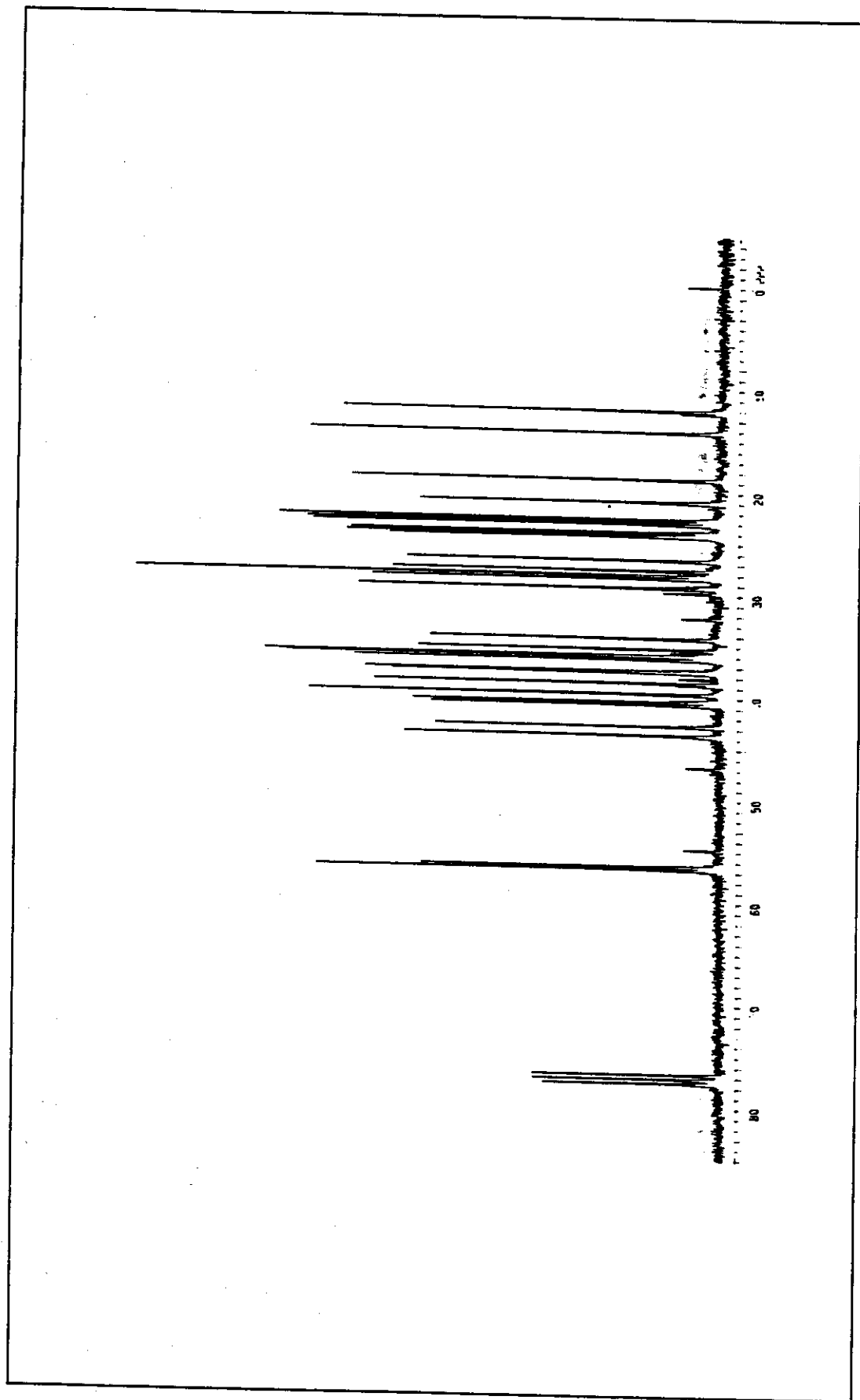


Figura 88: Espectro de RMN ^{13}C do 3 α -n-Butil-5 β (H)-Colestano

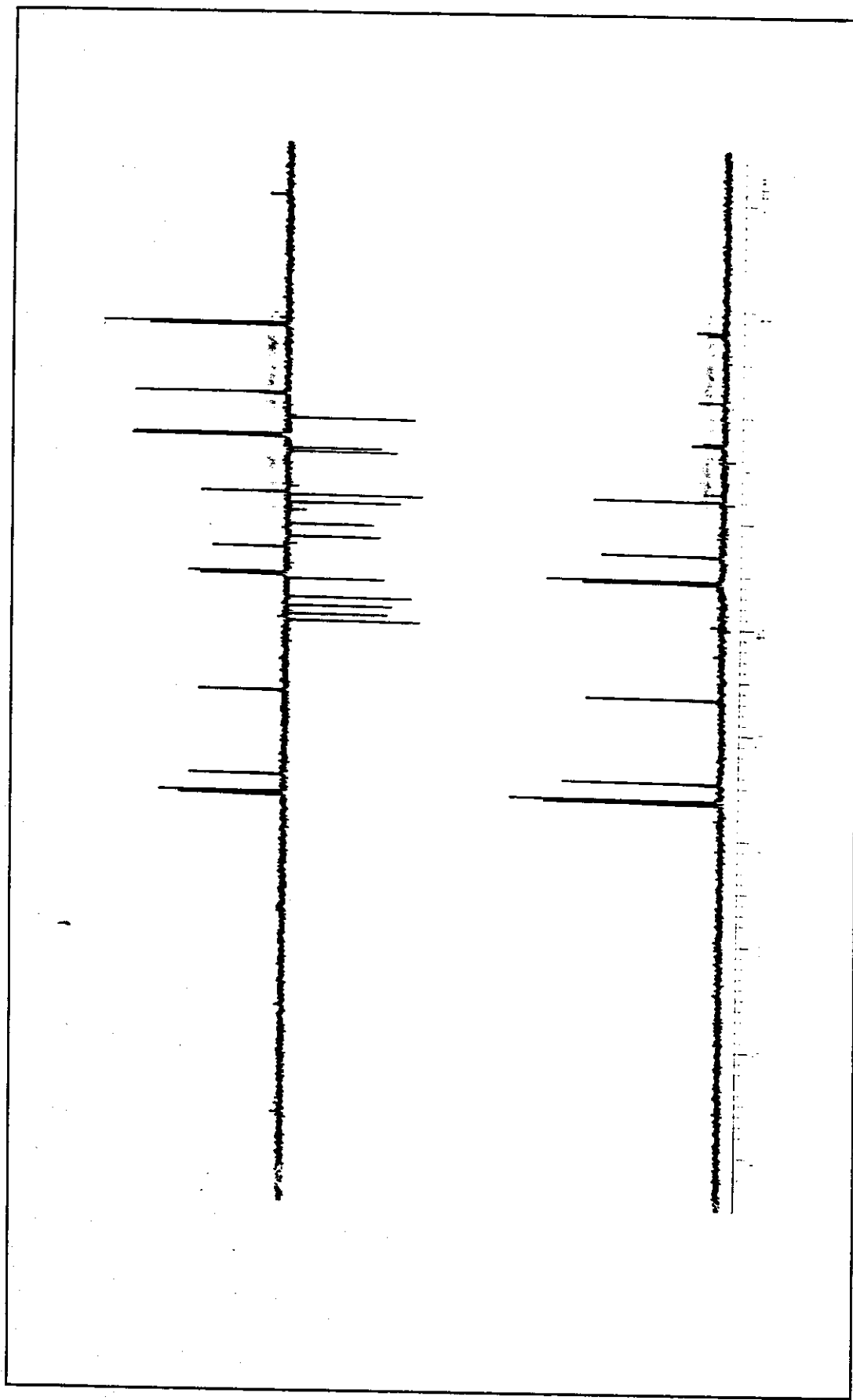


Figura 89: Espectro RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do 3 β -Metil-5 α (H)-Colestano

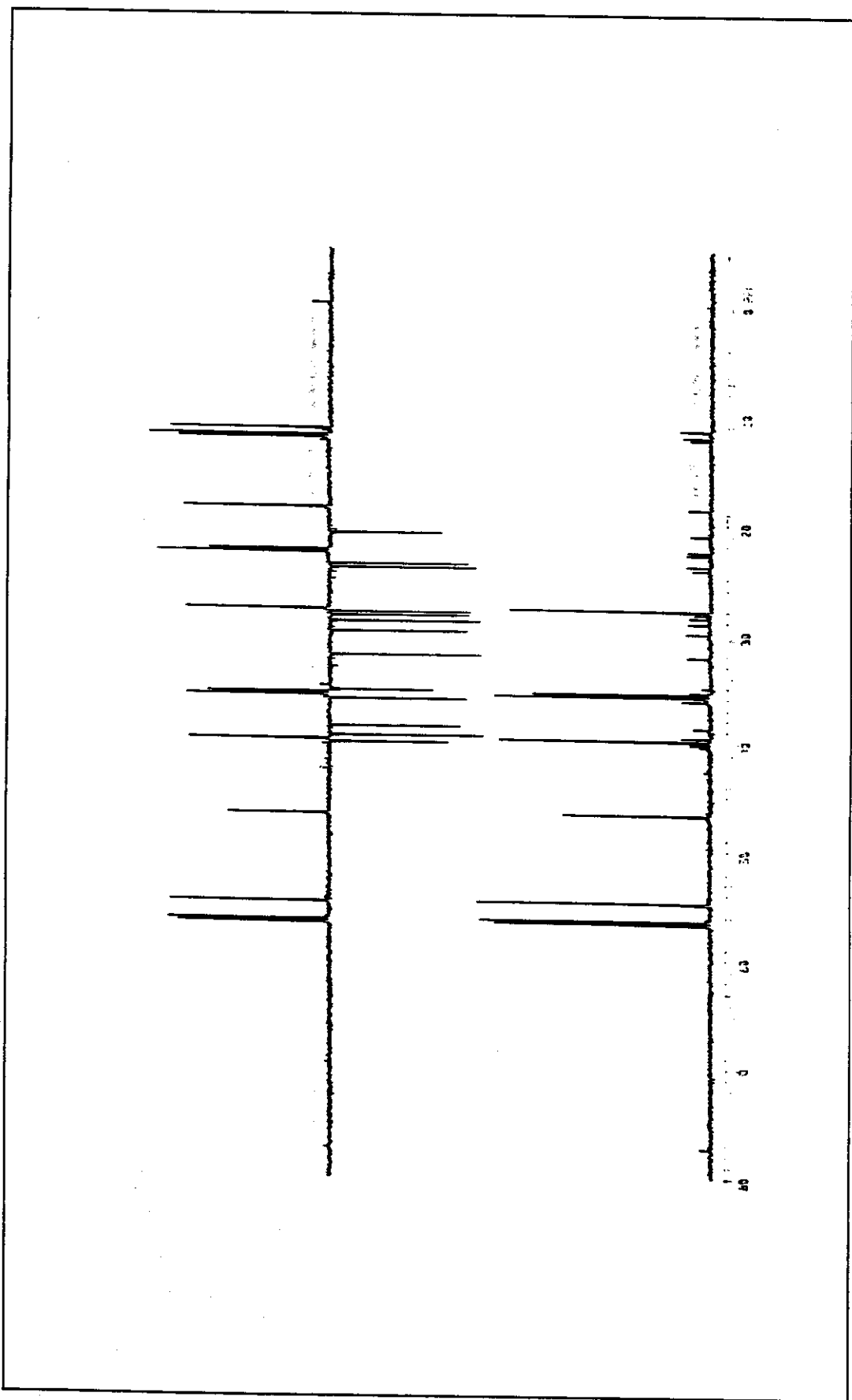


Figura 90: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do 3 β -Etil-5 α (H)-Colestano

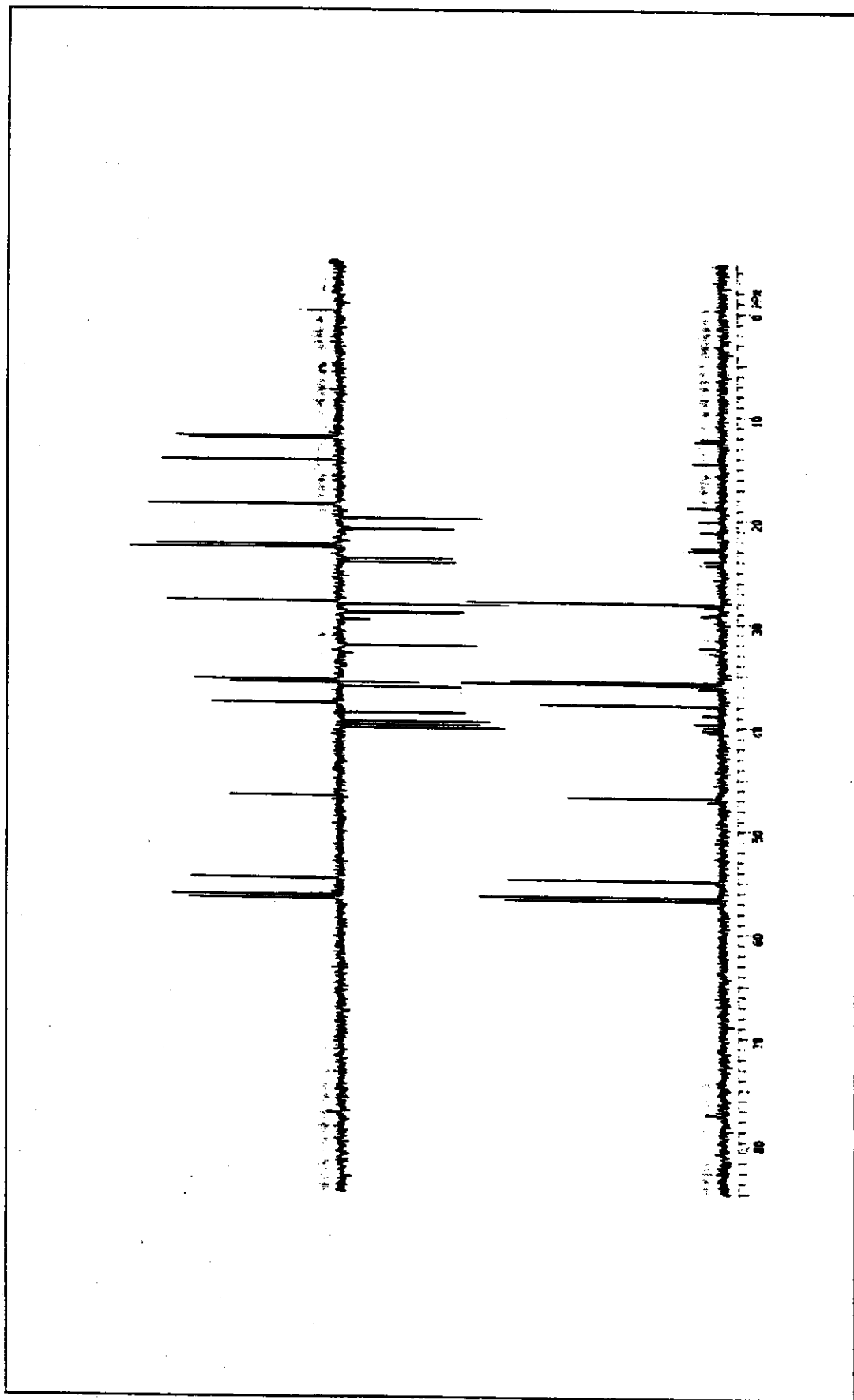


Figura 91: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do $3\beta\text{-h-Propil-5}\alpha(\text{H})\text{-Colestano}$

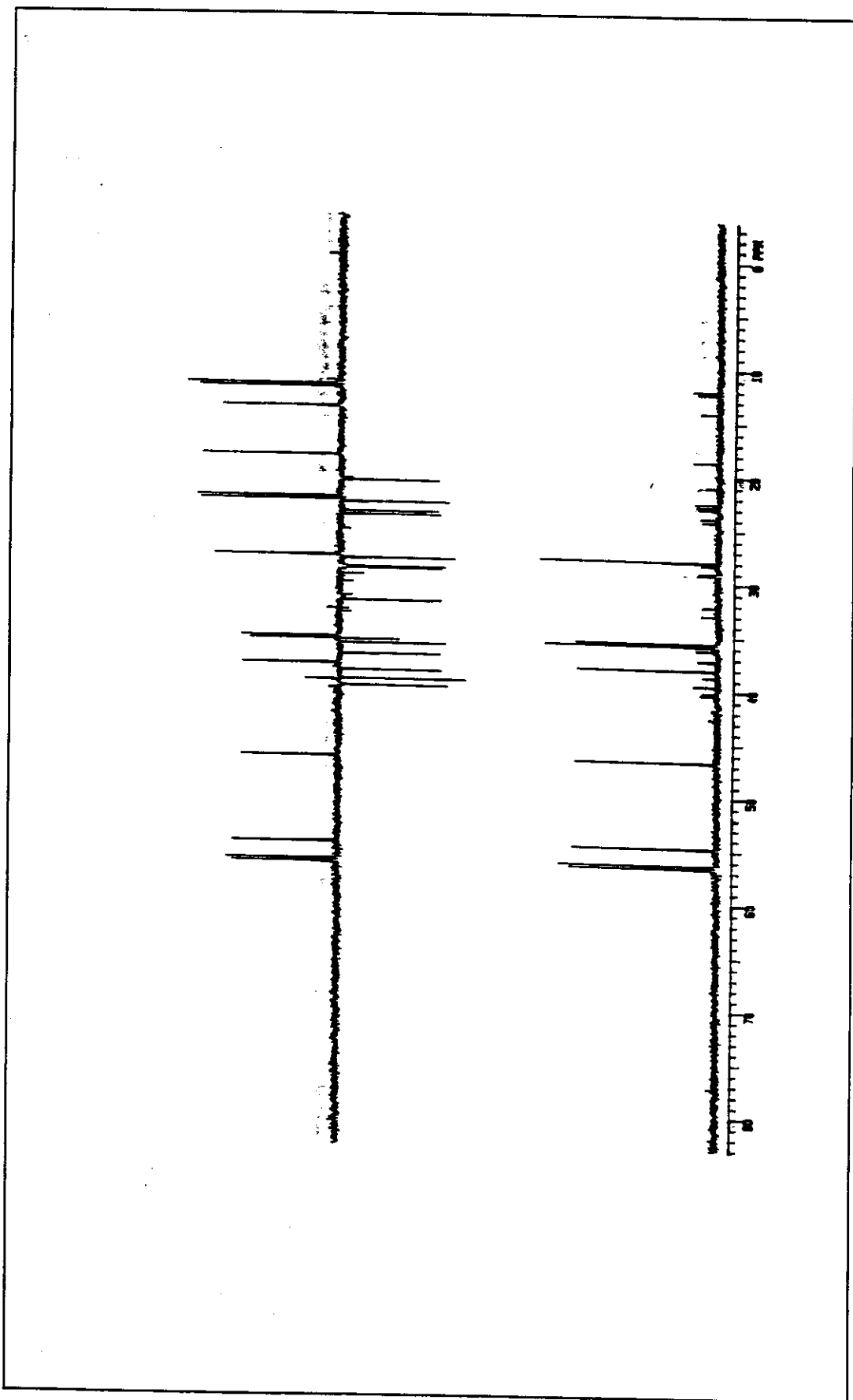


Figura 92: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do 3 β -n-Butil-5 α (H)-Colestano

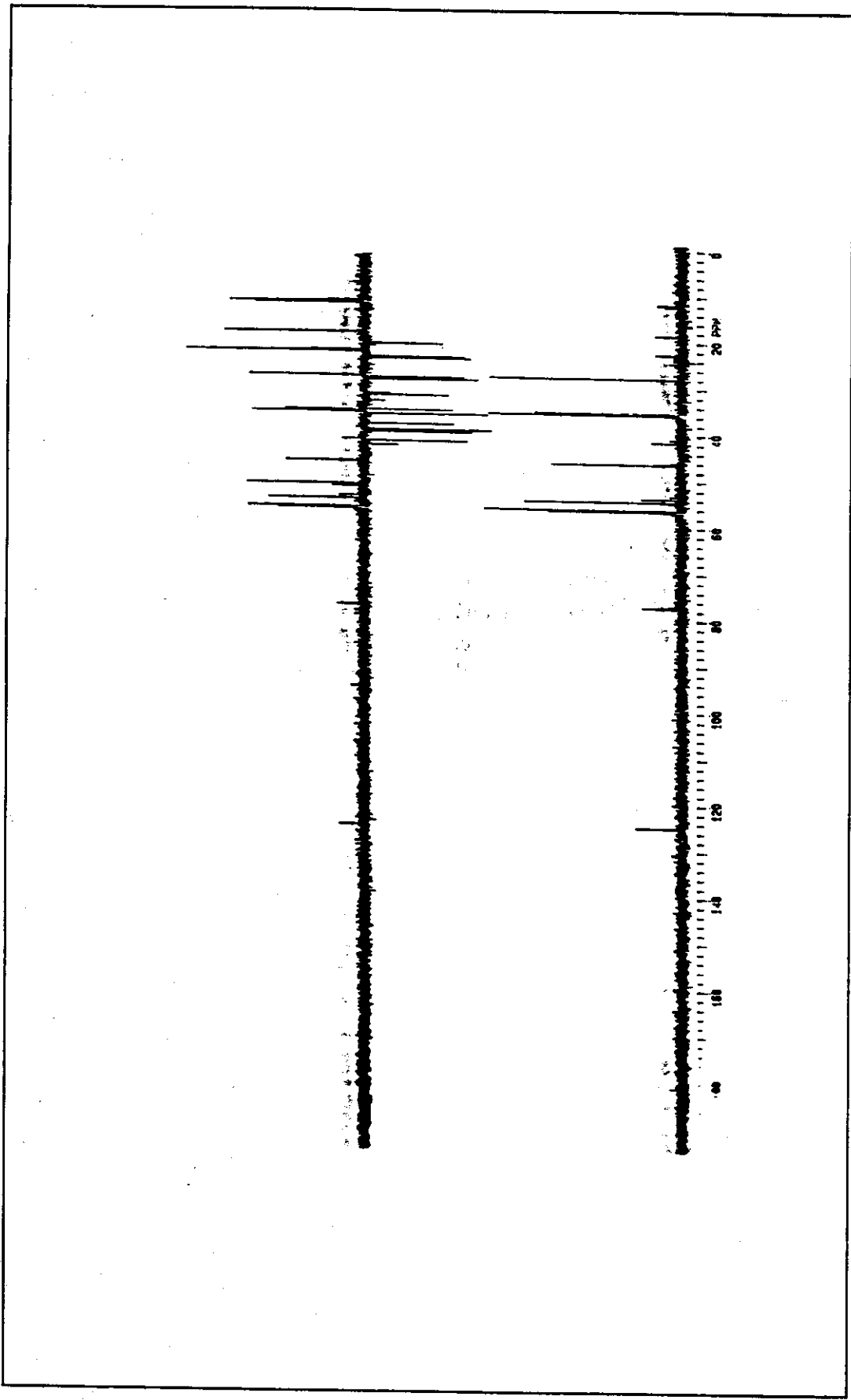


Figura 93: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do [5 α (H)-Colest-3 β -il]-Acetato de Metila

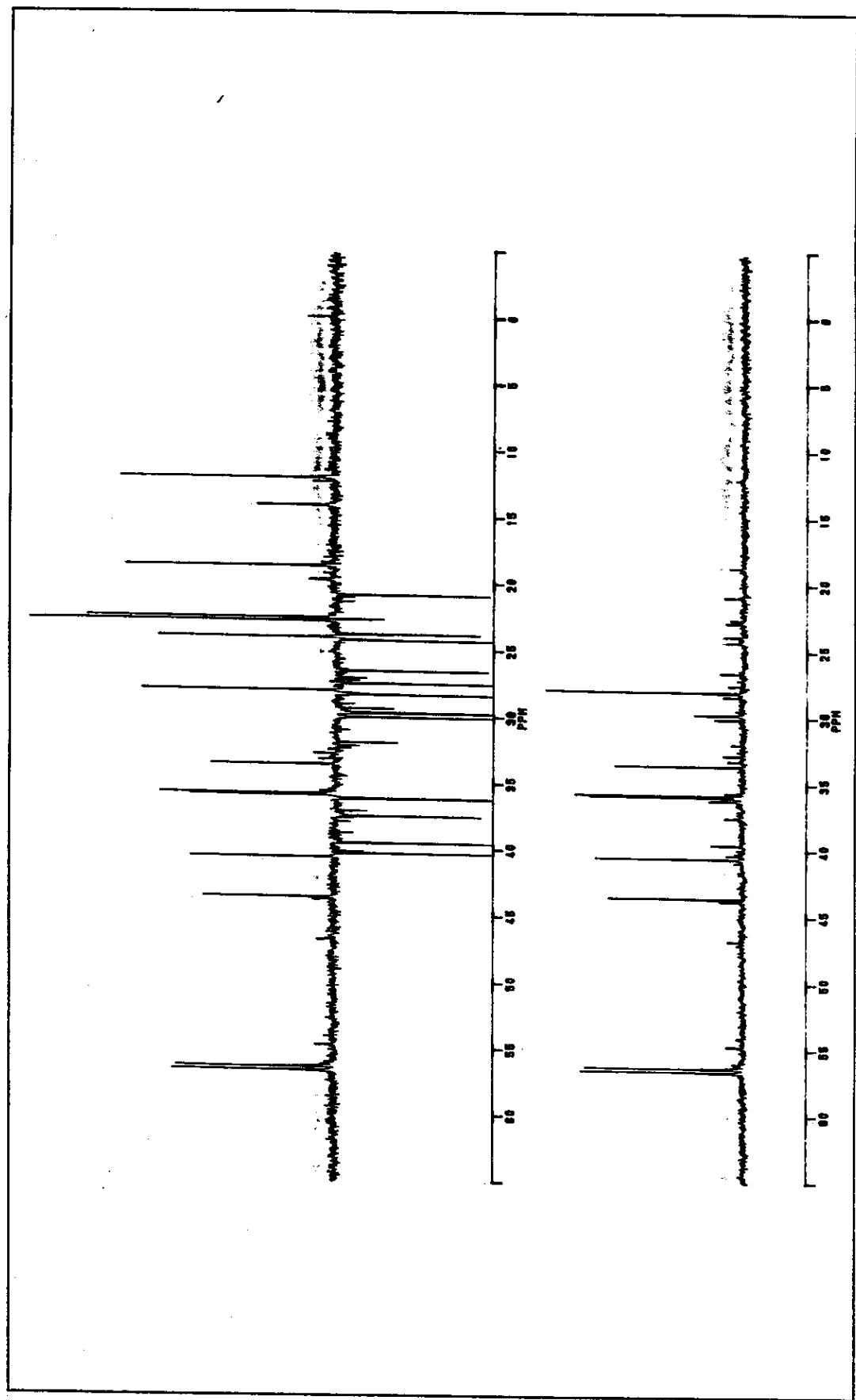


Figura 94: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do 3 α -Metil-5 β (H)-Colestano

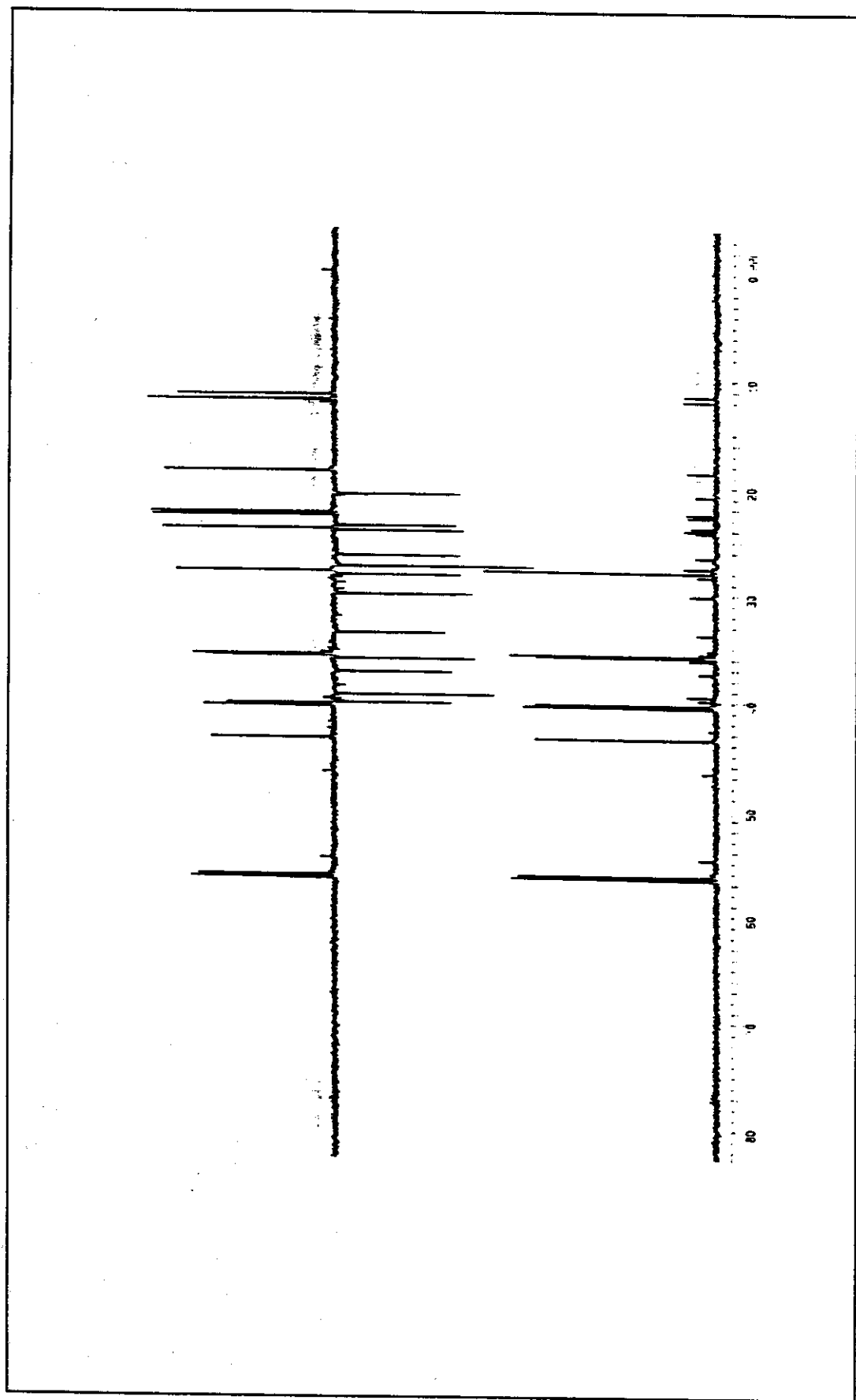


Figura 95: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do 3 α -Etil-5 β (H)-Colestano

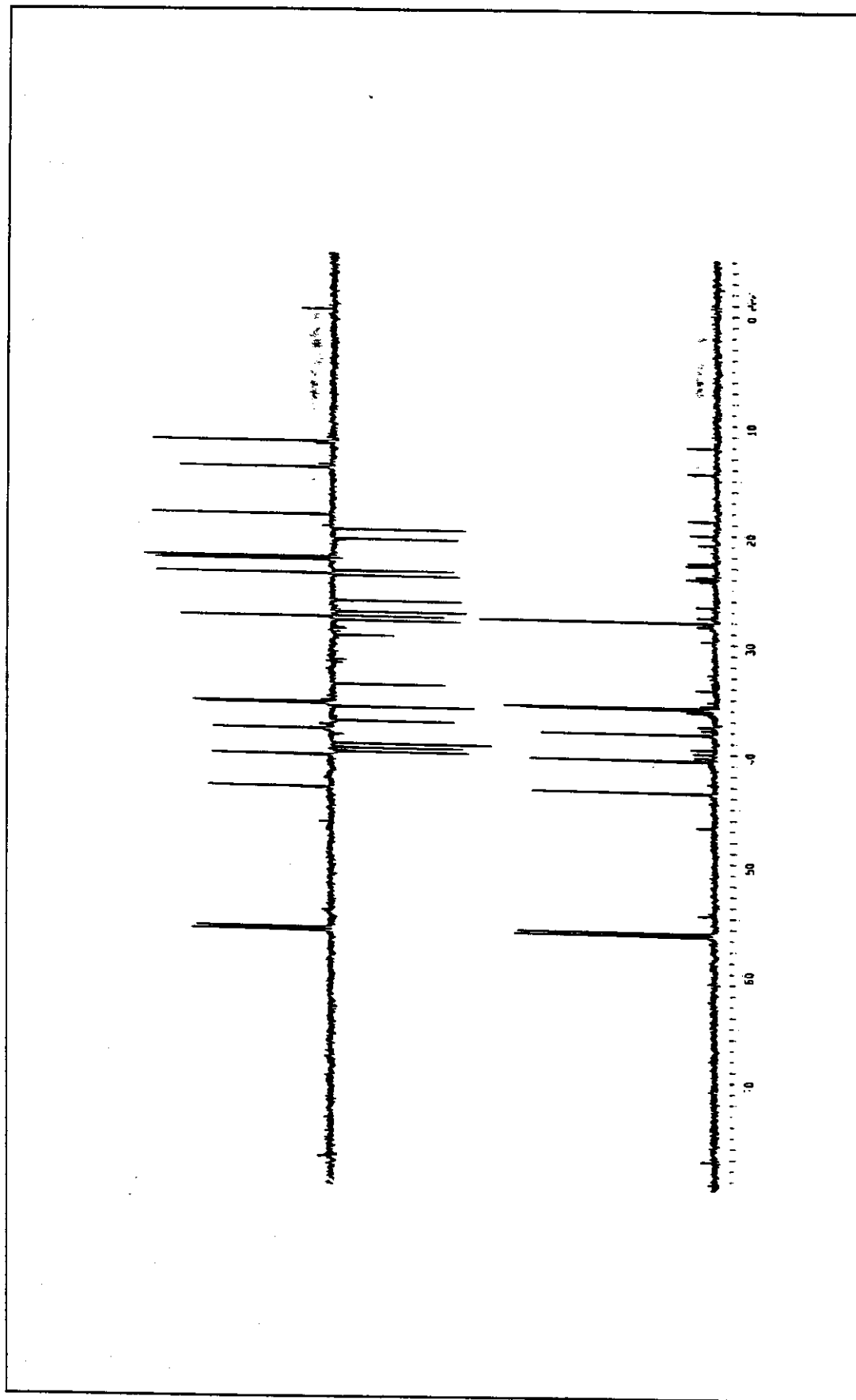


Figura 96: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do $3\alpha\text{-n-Propil-5}\beta(\text{H})\text{-Colestano}$

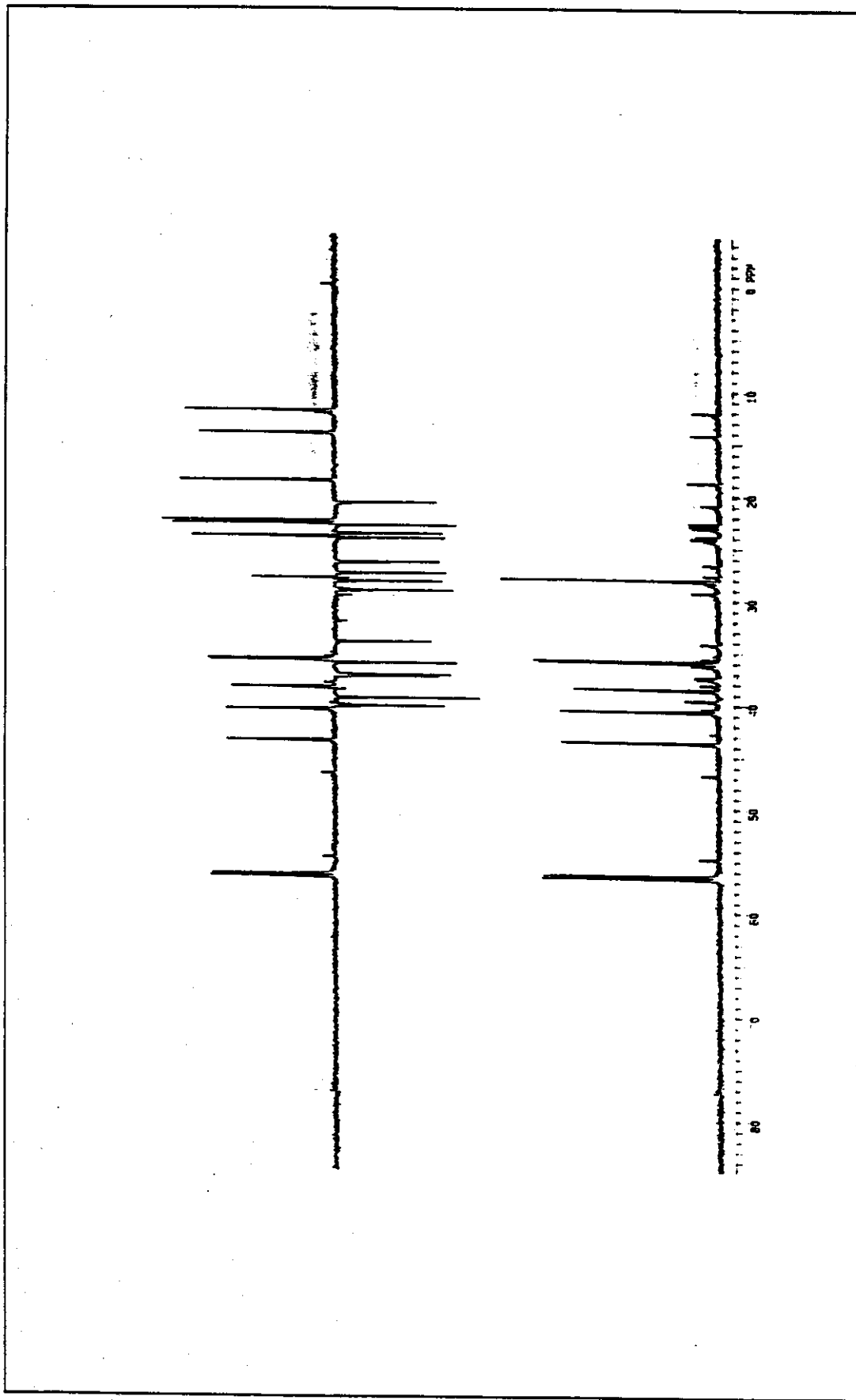


Figura 97: Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) do $3\alpha\text{-n-Butil-5}\beta(\text{H})\text{-Colestano}$

**X. APÊNDICE B:
ESPECTROS DE MASSAS
CORRESPONDENTES AOS PICOS
LISTADOS NAS TABELAS 2, 3, 9, 13 E 15**

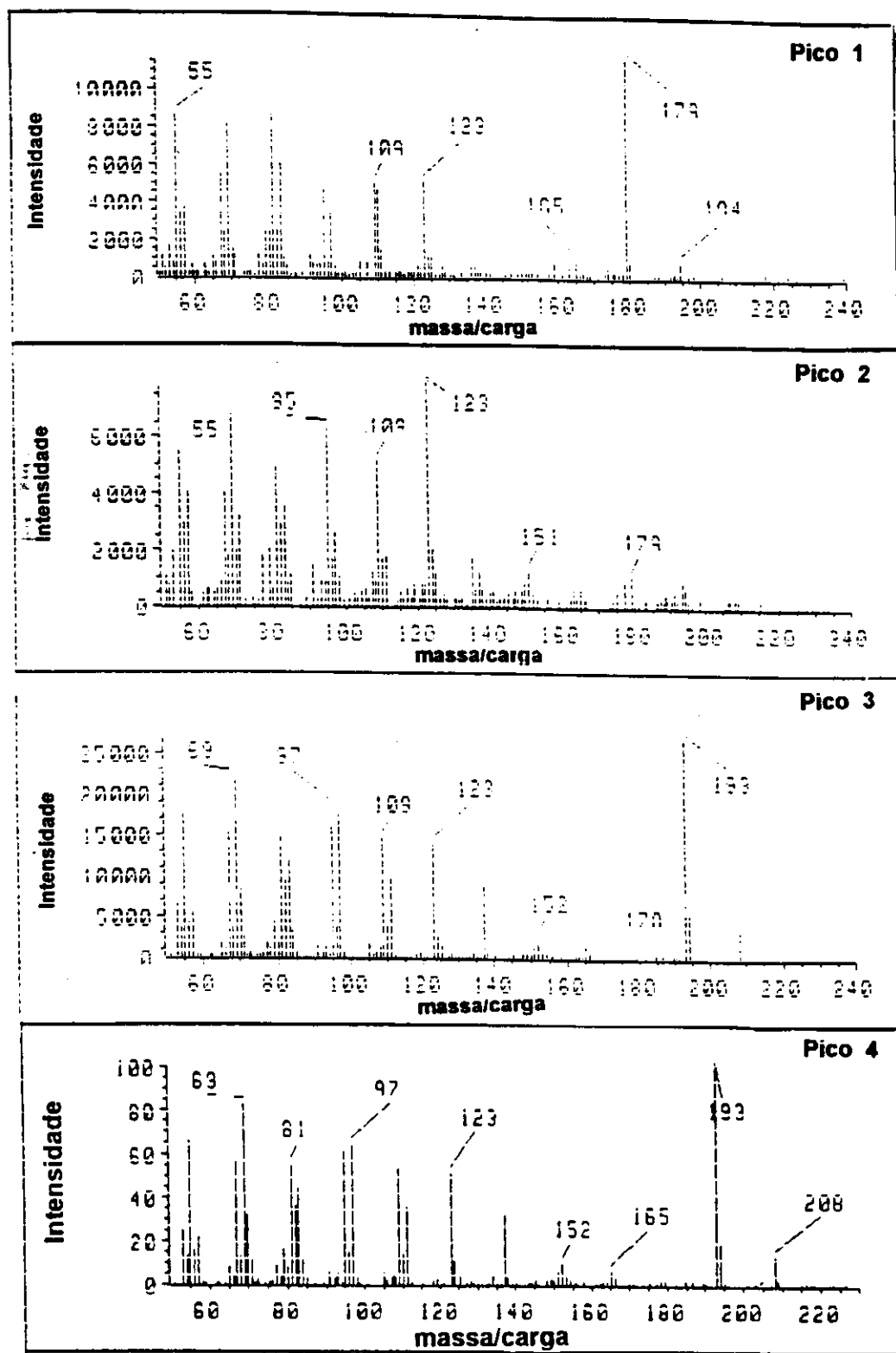


Figura 98: Espectros de massas dos terpanos bicíclicos correspondentes aos picos 1; 2; 3 e 4, da figura 13 (página. 35), descritos na tabela 2 (página 35)

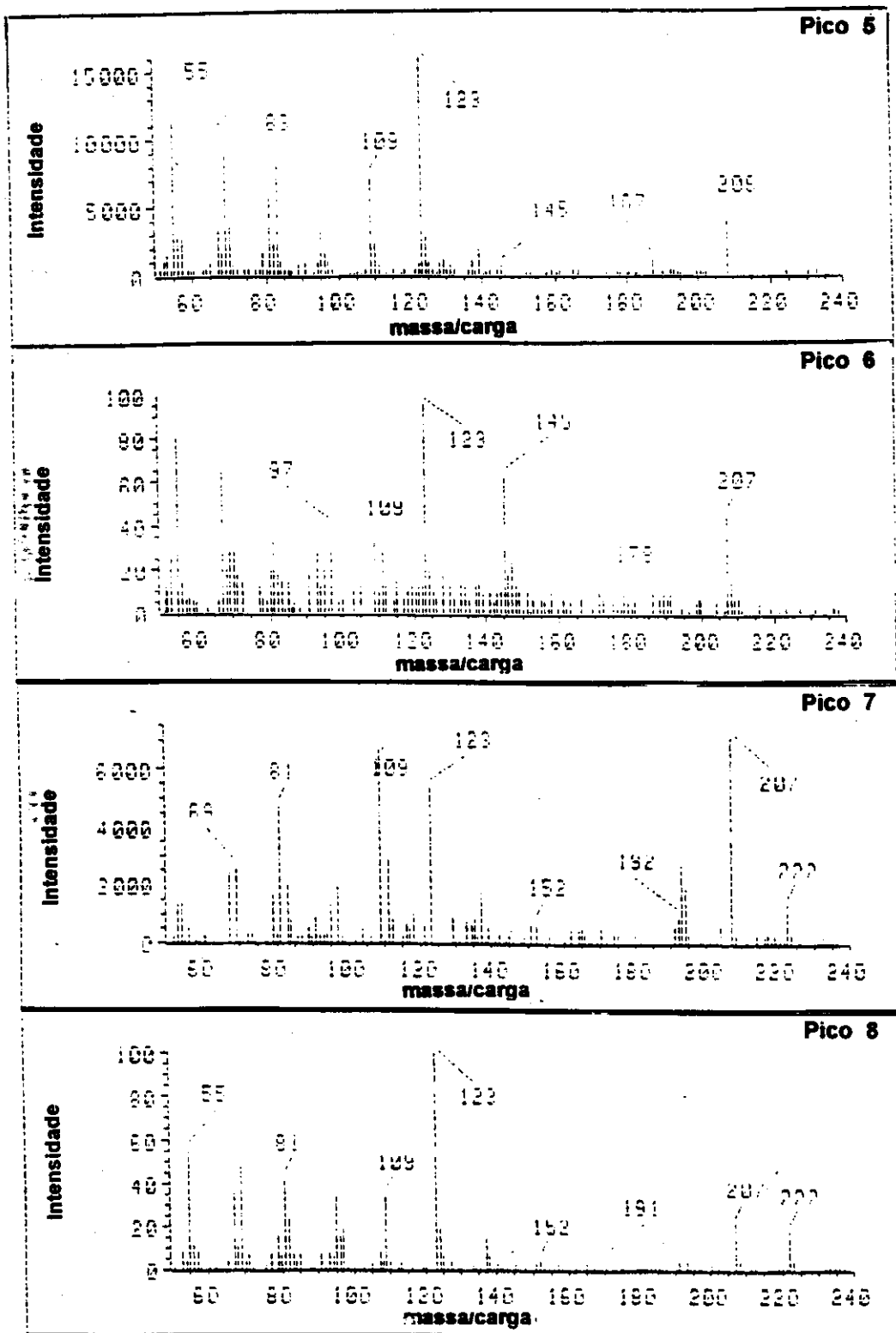


Figura 99: Espectros de massas dos terpanos bicíclicos correspondentes aos picos 5; 6; 7 e 8, da figura 13 (página. 35), descritos na tabela 2 (página 35)

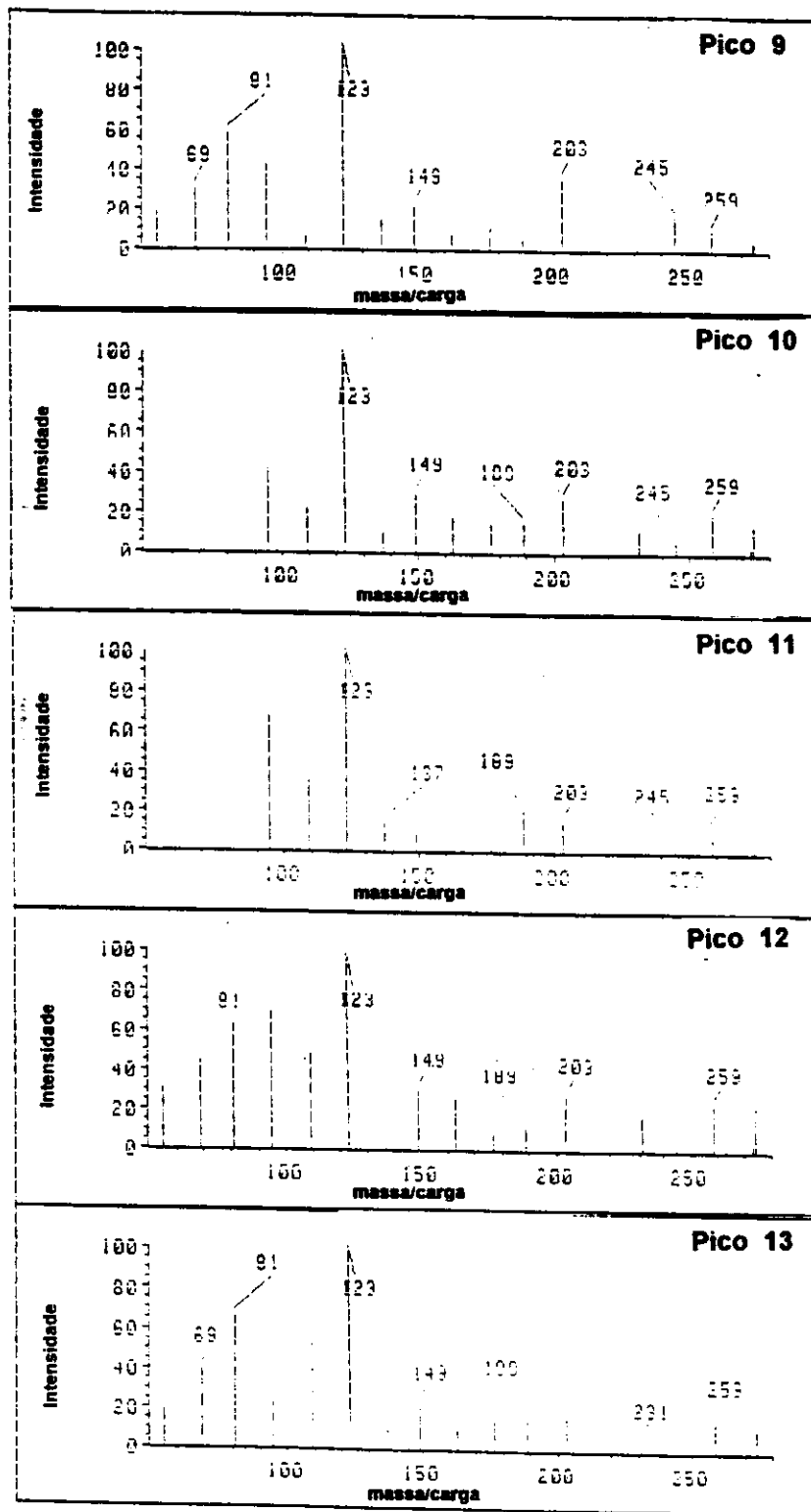


Figura 100: Espectros de massas dos terpanos tetracíclicos correspondentes aos picos 9; 10; 11, 12 e 13 da figura 16 (página. 38), descritos na tabela 3 (página 38)

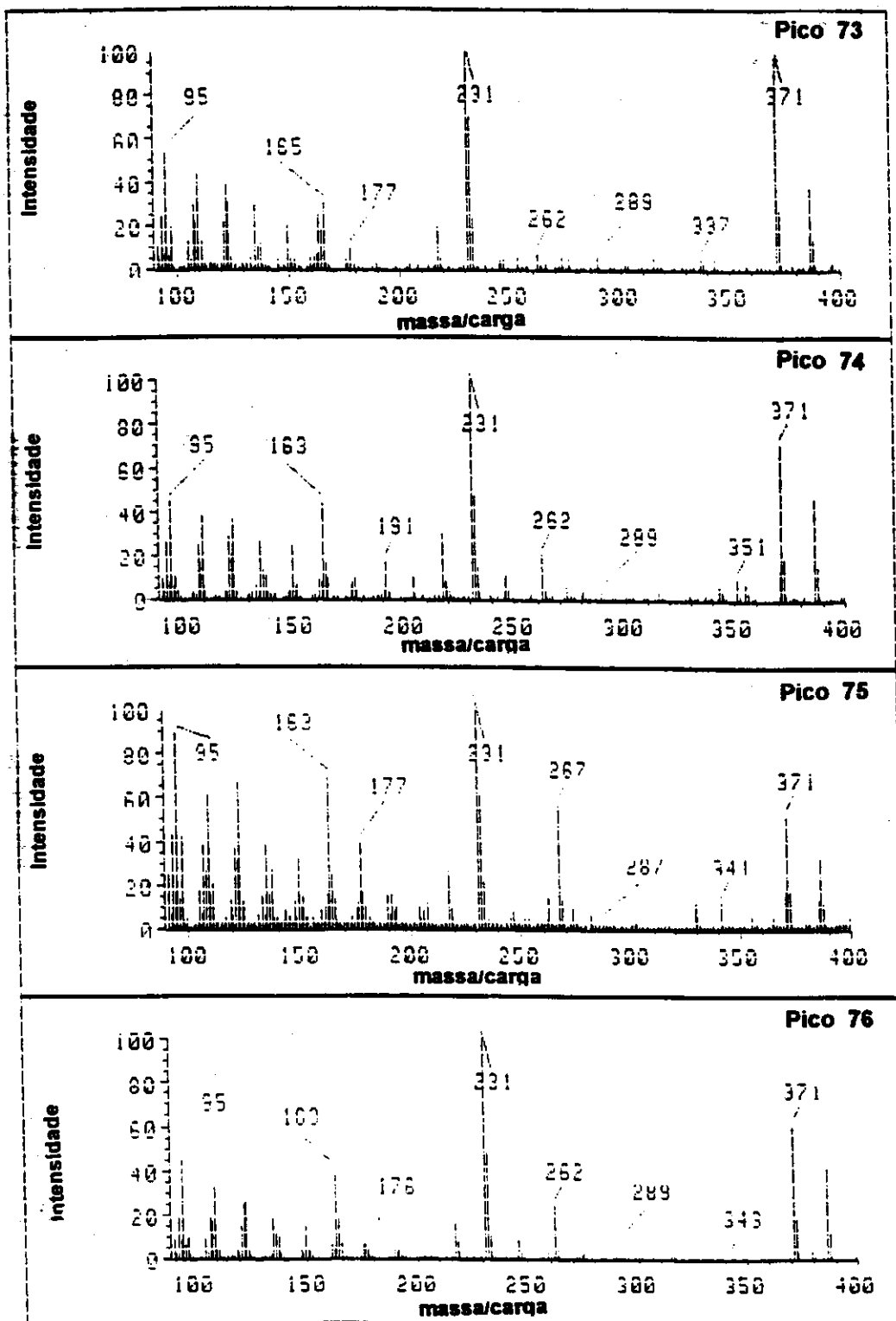


Figura 101: Espectros de massas dos alquil esteranos correspondentes aos picos 73; 74, 75 e 76 da figura 26 (página. 49), descritos na tabela 9 (página 50)

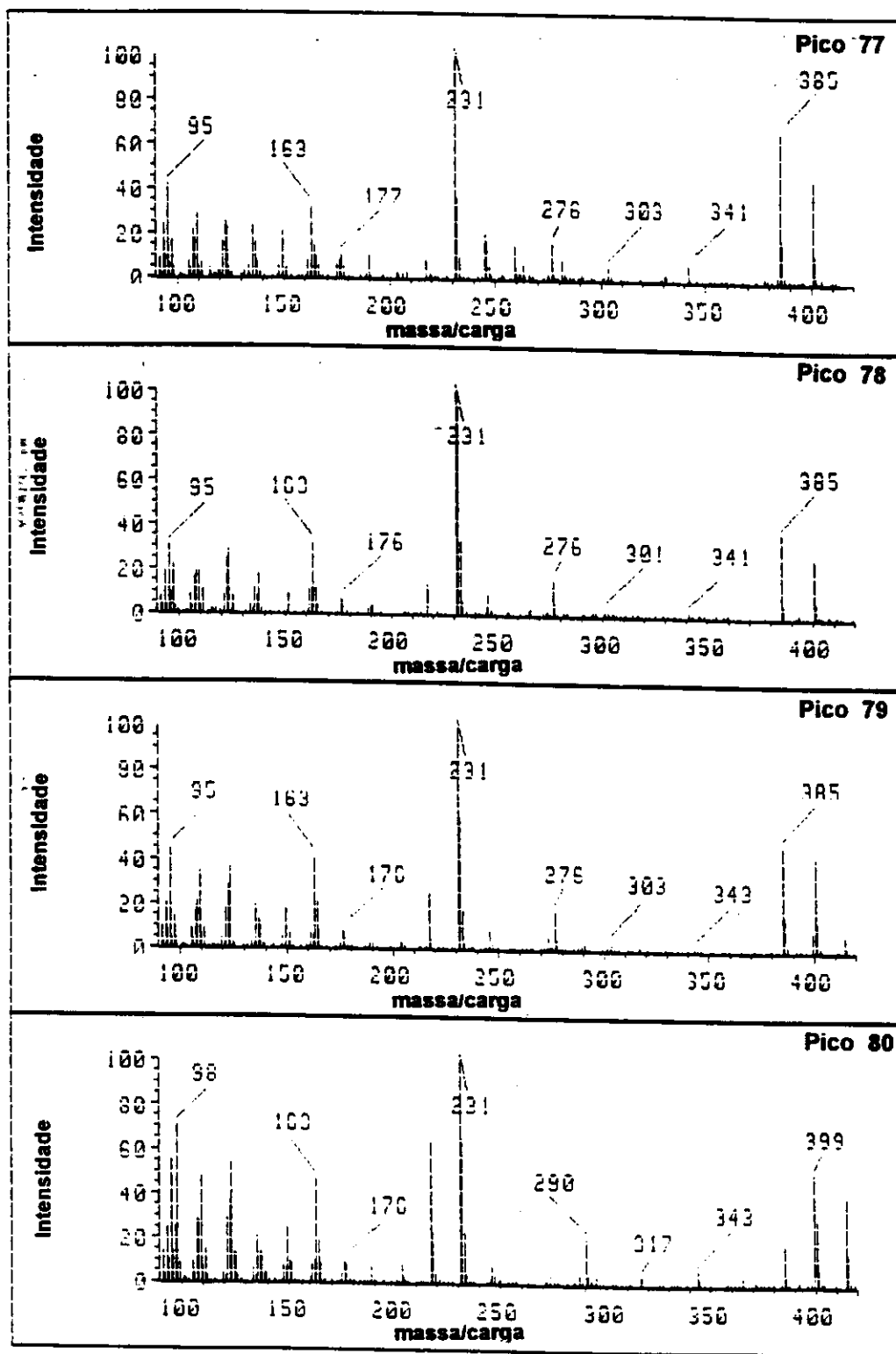


Figura 102: Espectros de massas dos alquil esteranos correspondentes aos picos 77; 78, 79 e 80 da figura 26 (página. 49), descritos na tabela 9 (página 50)

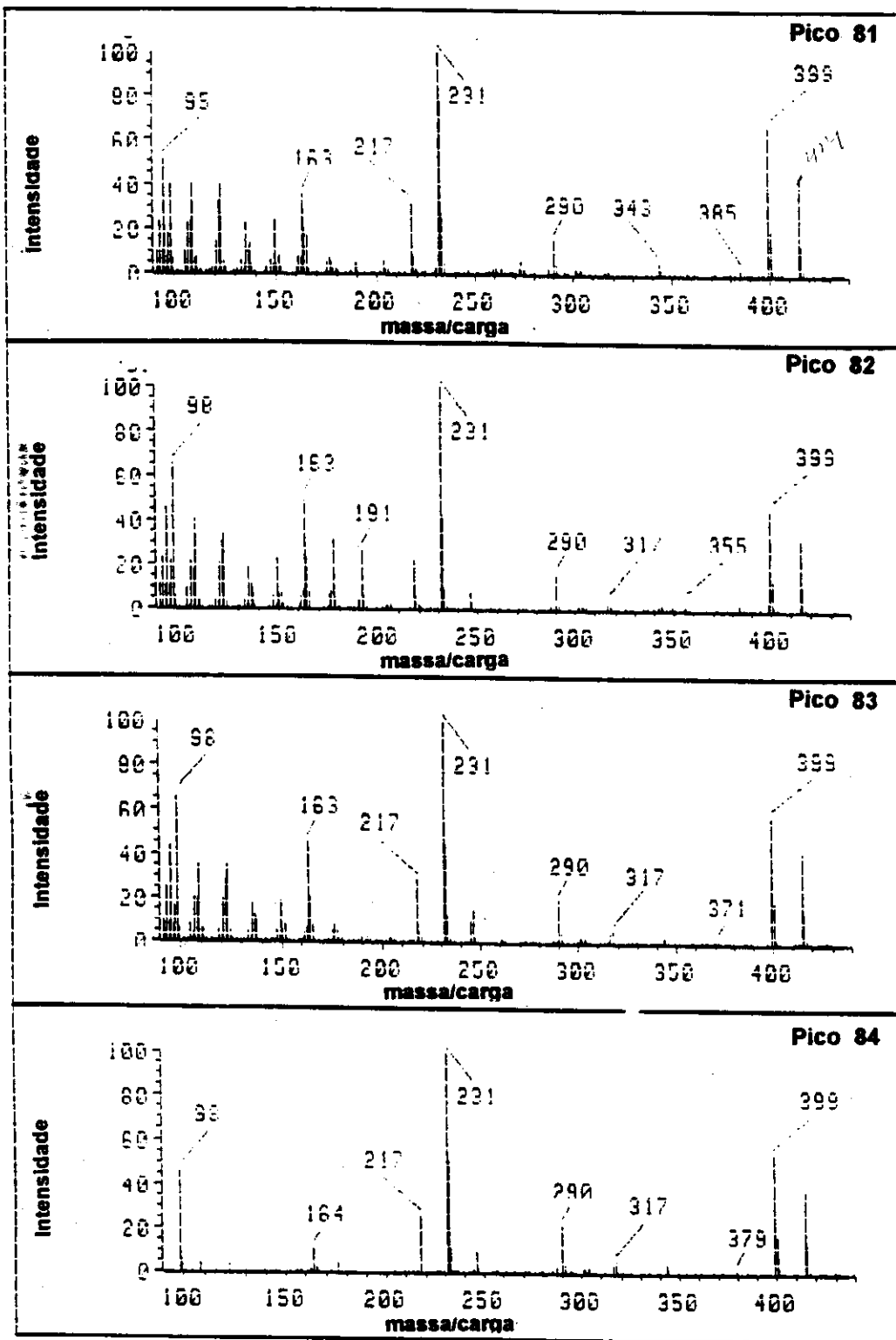


Figura 103: Espectros de massas dos alquil esteranos correspondentes aos picos 81; 82, 83 e 84 da figura 26 (página. 49), descritos na tabela 9 (página 50)

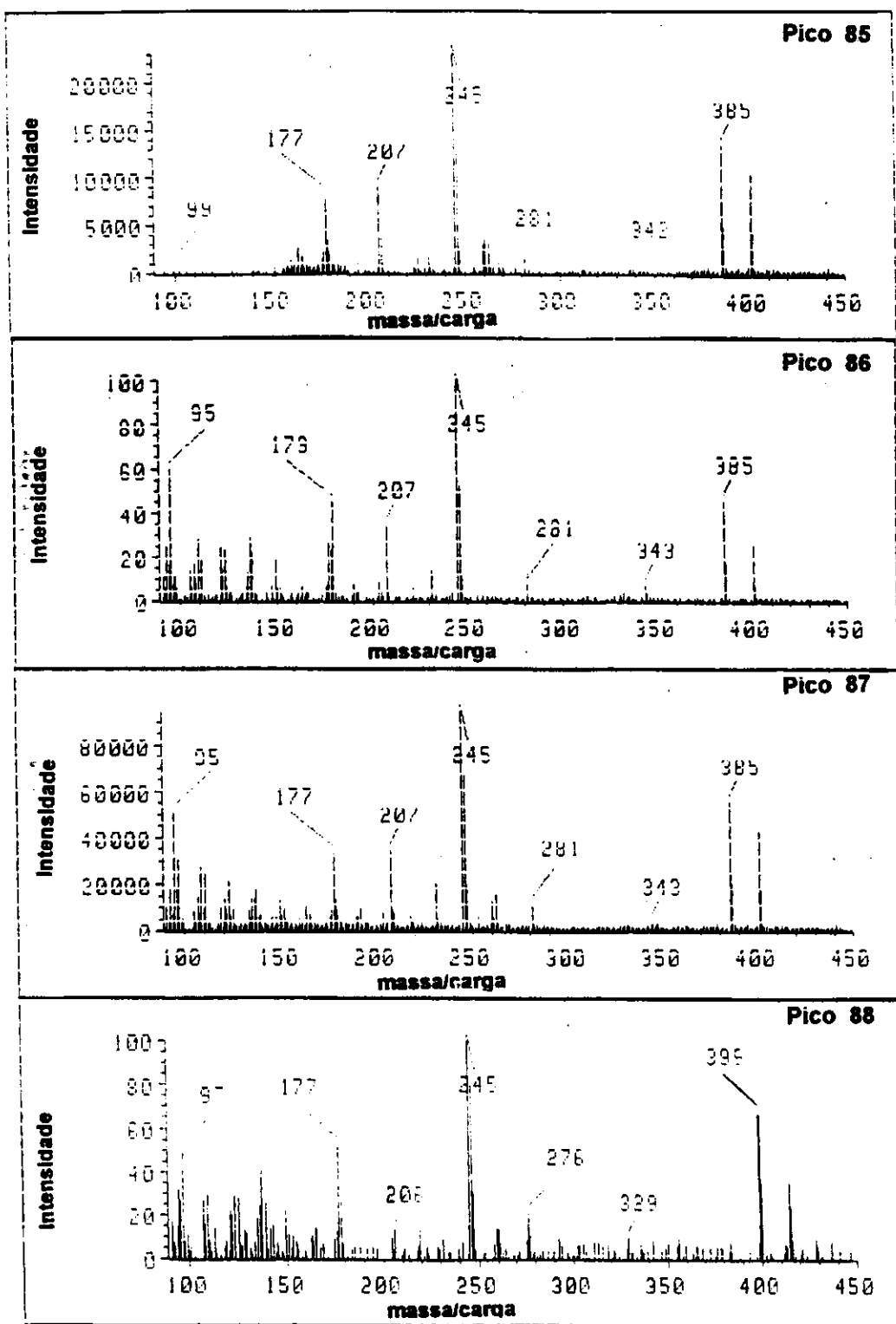


Figura 104: Espectros de massas dos alquil esteranos correspondentes aos picos 85; 86. 87 e 88 da figura 26 (página. 49), descritos na tabela 9 (página 50)

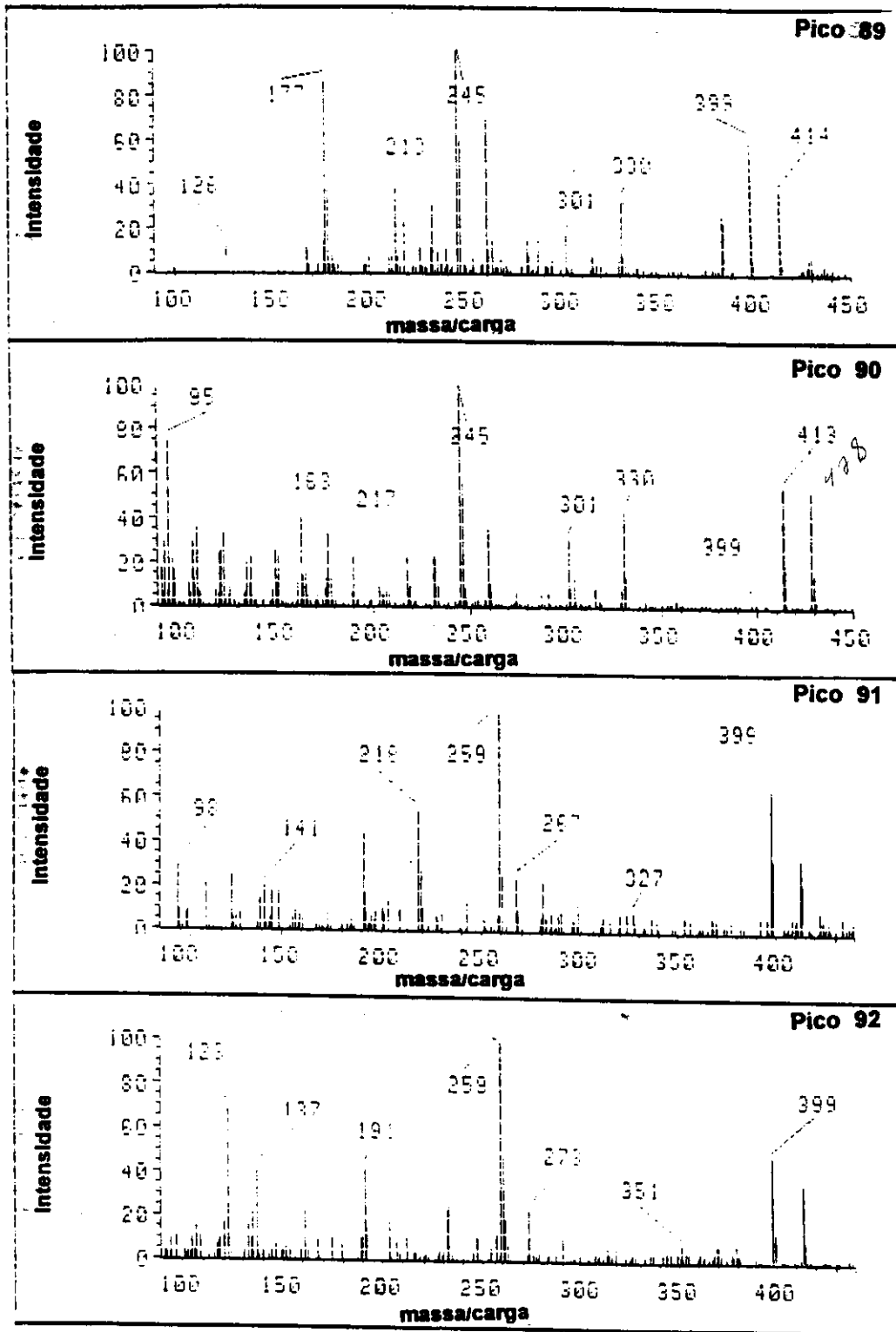


Figura 105: Espectros de massas dos alquil esteranos correspondentes aos picos 89; 90, 91 e 92 da figura 26 (página. 49), descritos na tabela 9 (página 50)

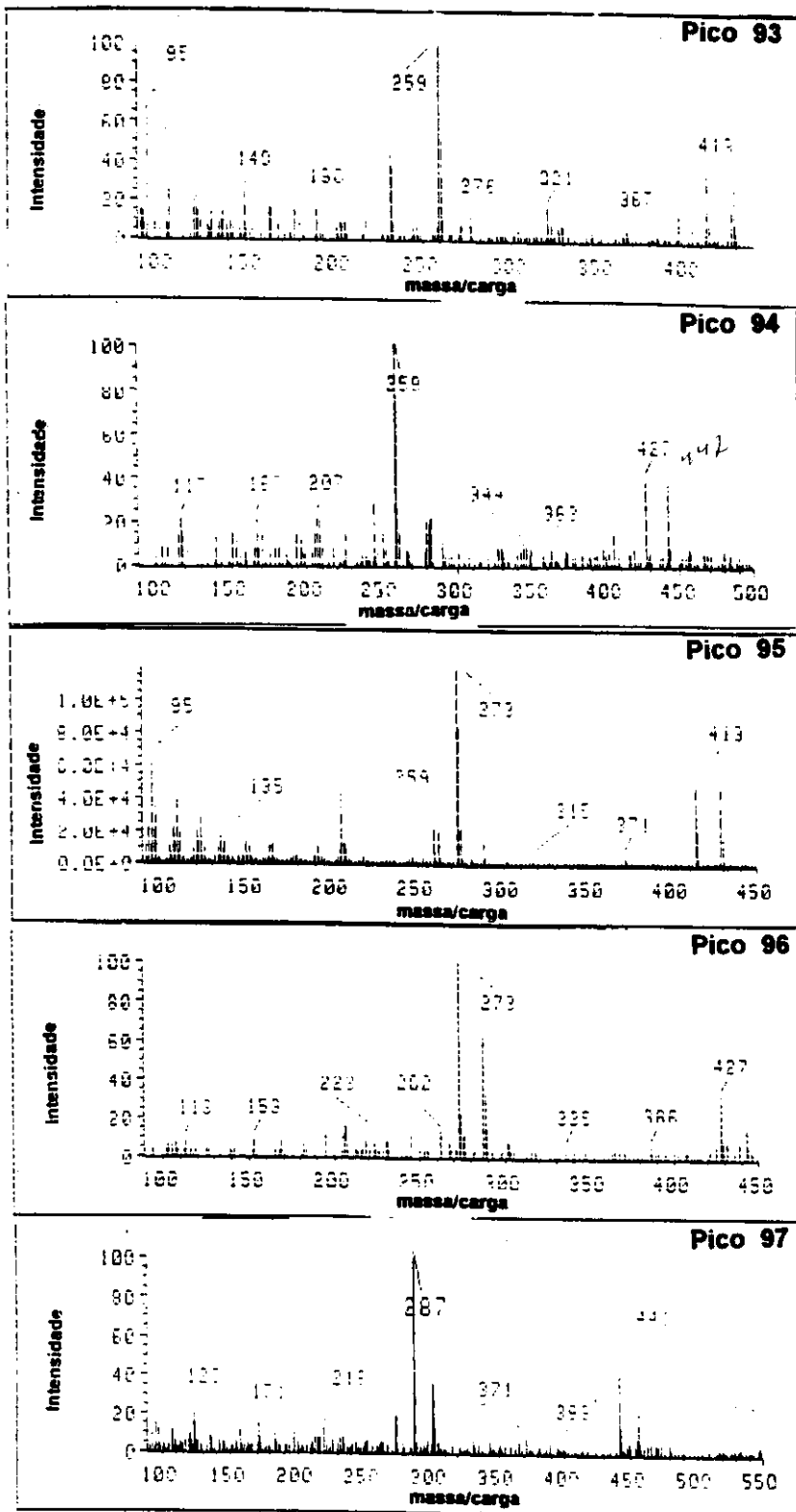


Figura 106: Espectros de massas dos alquil esteranos correspondentes aos picos 93; 94. 95, 96 e 97 da figura 26 (página. 49), descritos na tabela 9 (página 50)

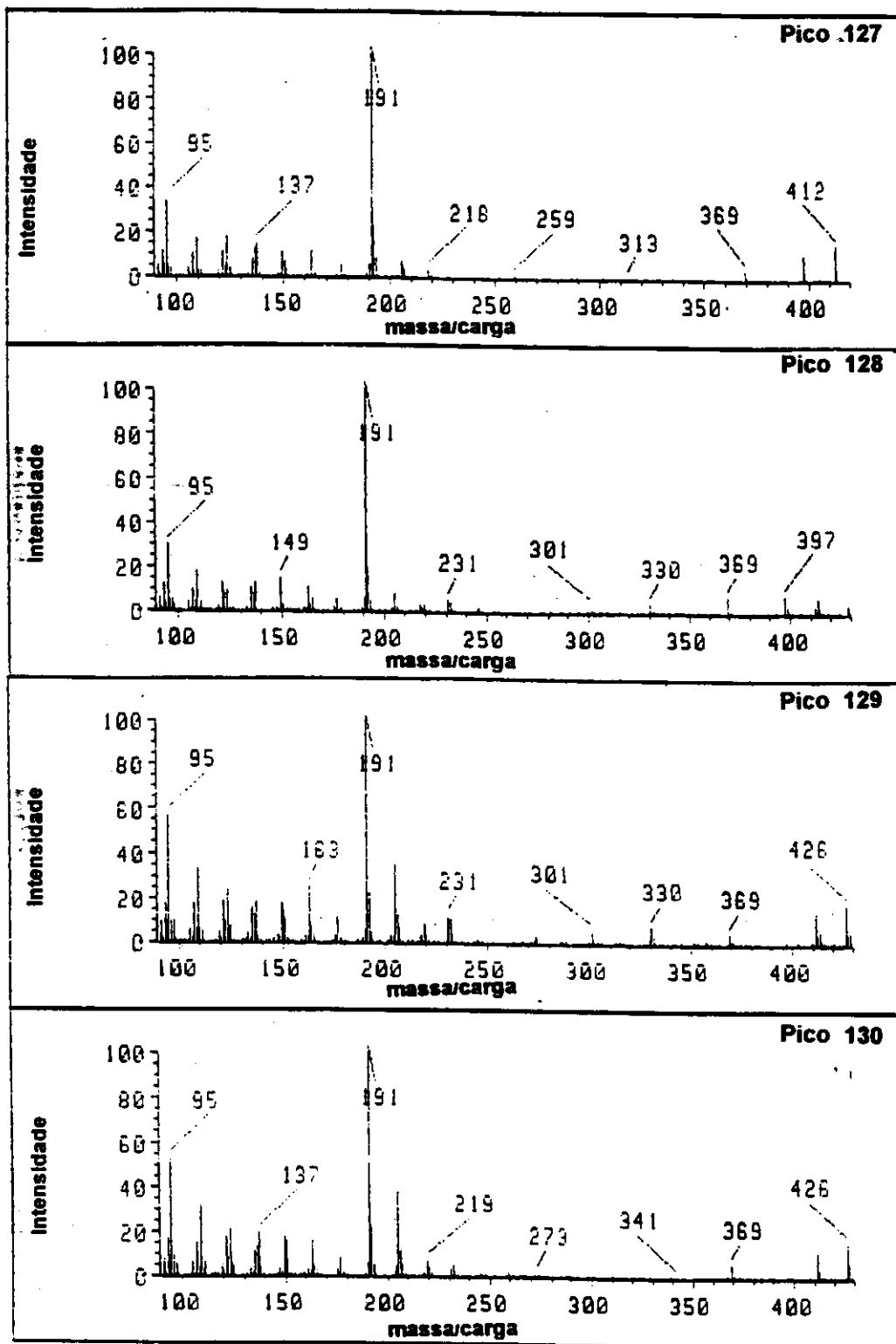


Figura 107: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos hopanóicos, correspondentes aos picos 127; 128, 129 e 130 da figura 35 (página. 68), descritos na tabela 13 (página 69)

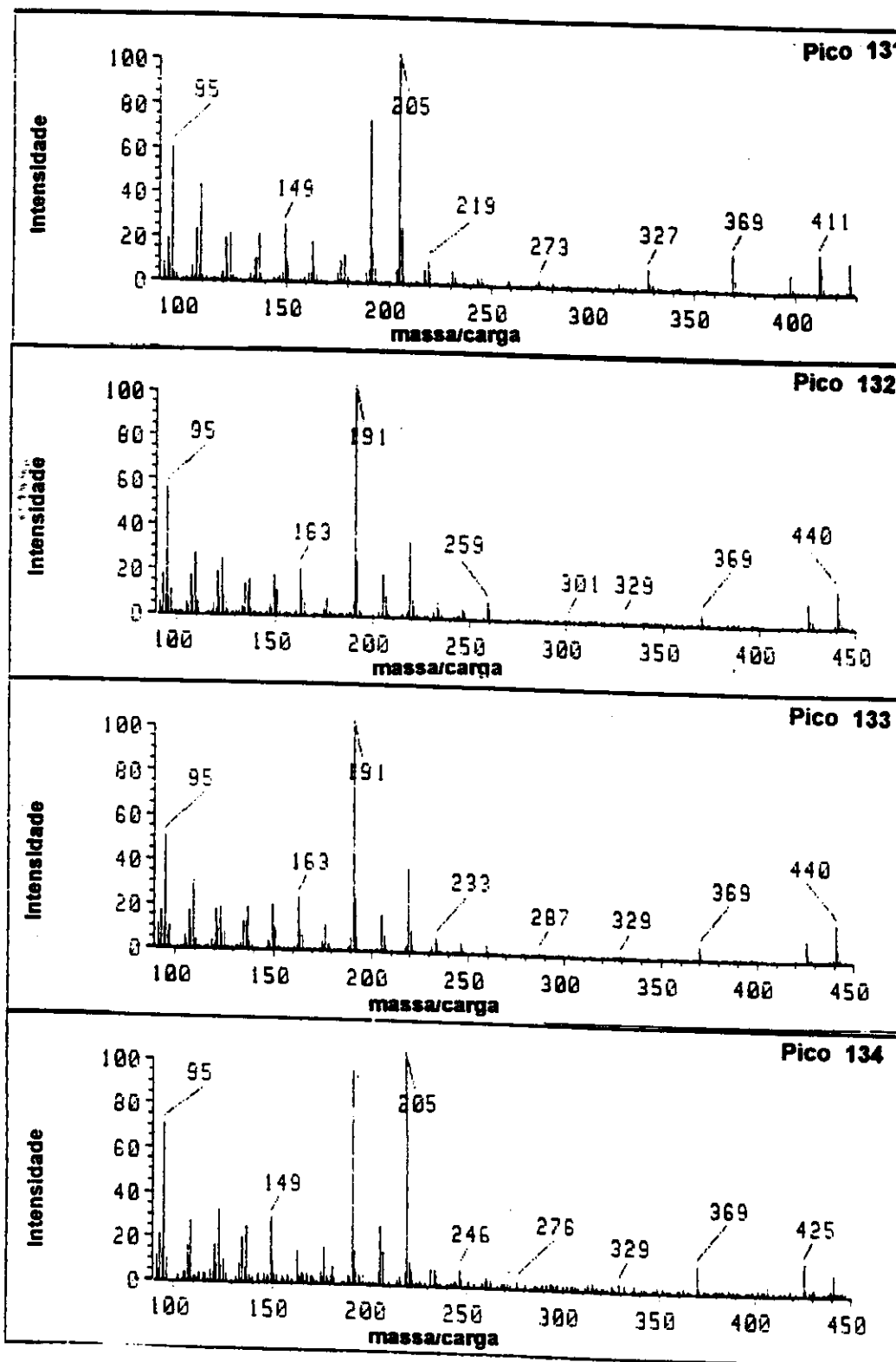


Figura 108: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos hopanóicos, correspondentes aos picos 131; 132, 133 e 134 da figura 35 (página. 68), descritos na tabela 13 (página 69)

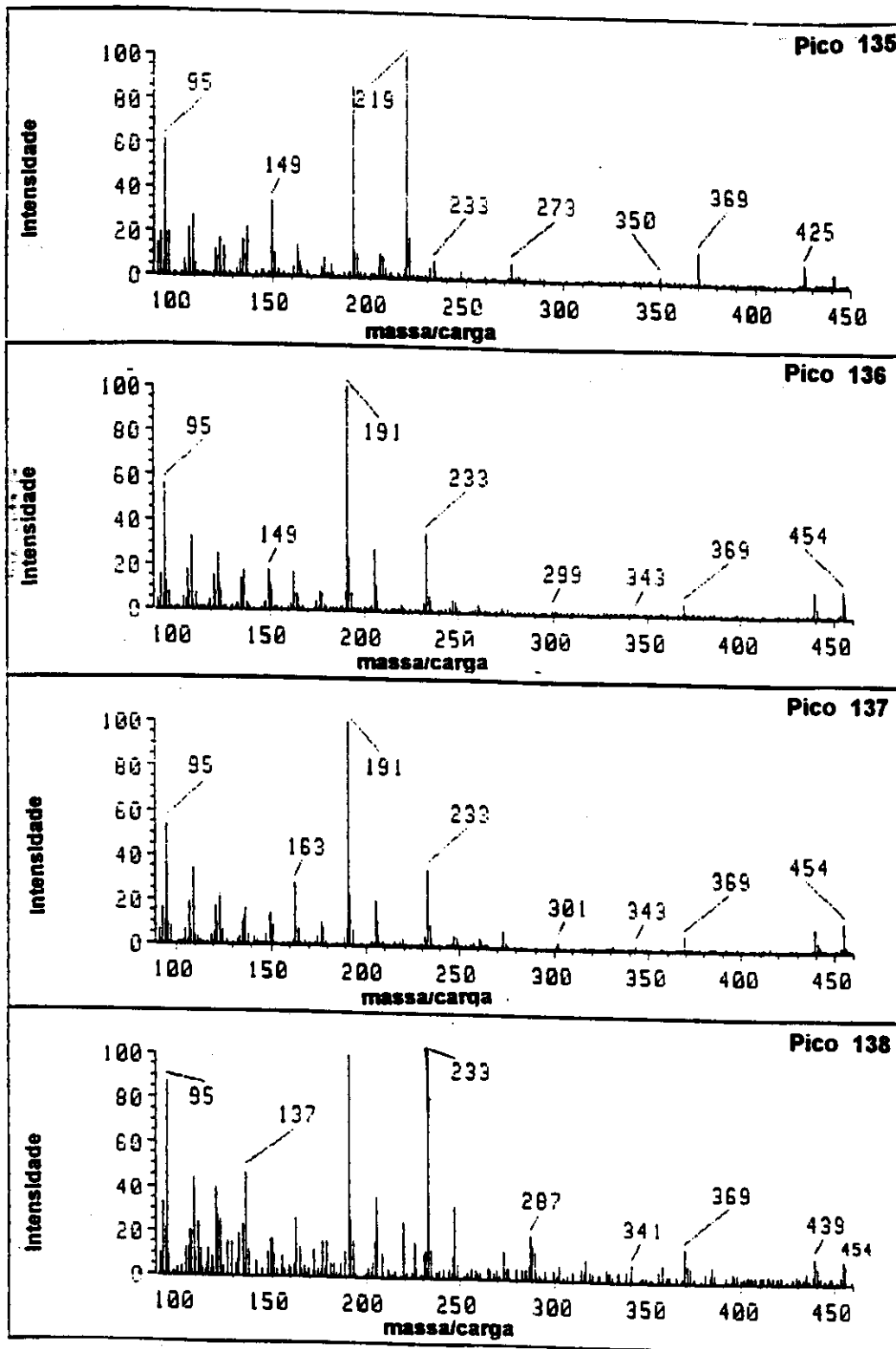


Figura 109: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos hopanóicos, correspondentes aos picos 135; 136, 137 e 138 da figura 35 (página. 68), descritos na tabela 13 (página 69)

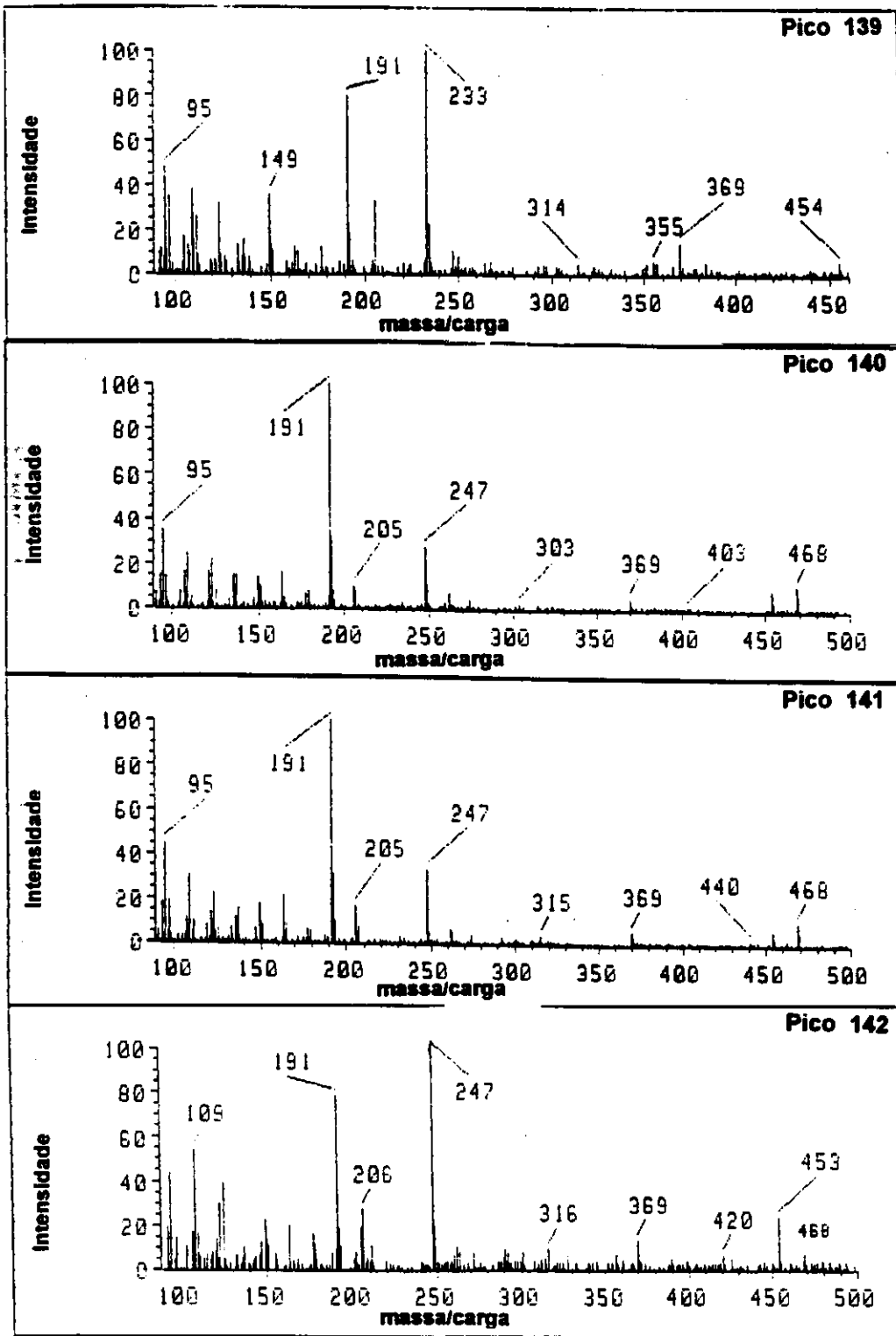


Figura 110: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos hopanóicos, correspondentes aos picos 139; 140, 141 e 142 da figura 35 (página. 68), descritos na tabela 13 (página 69)

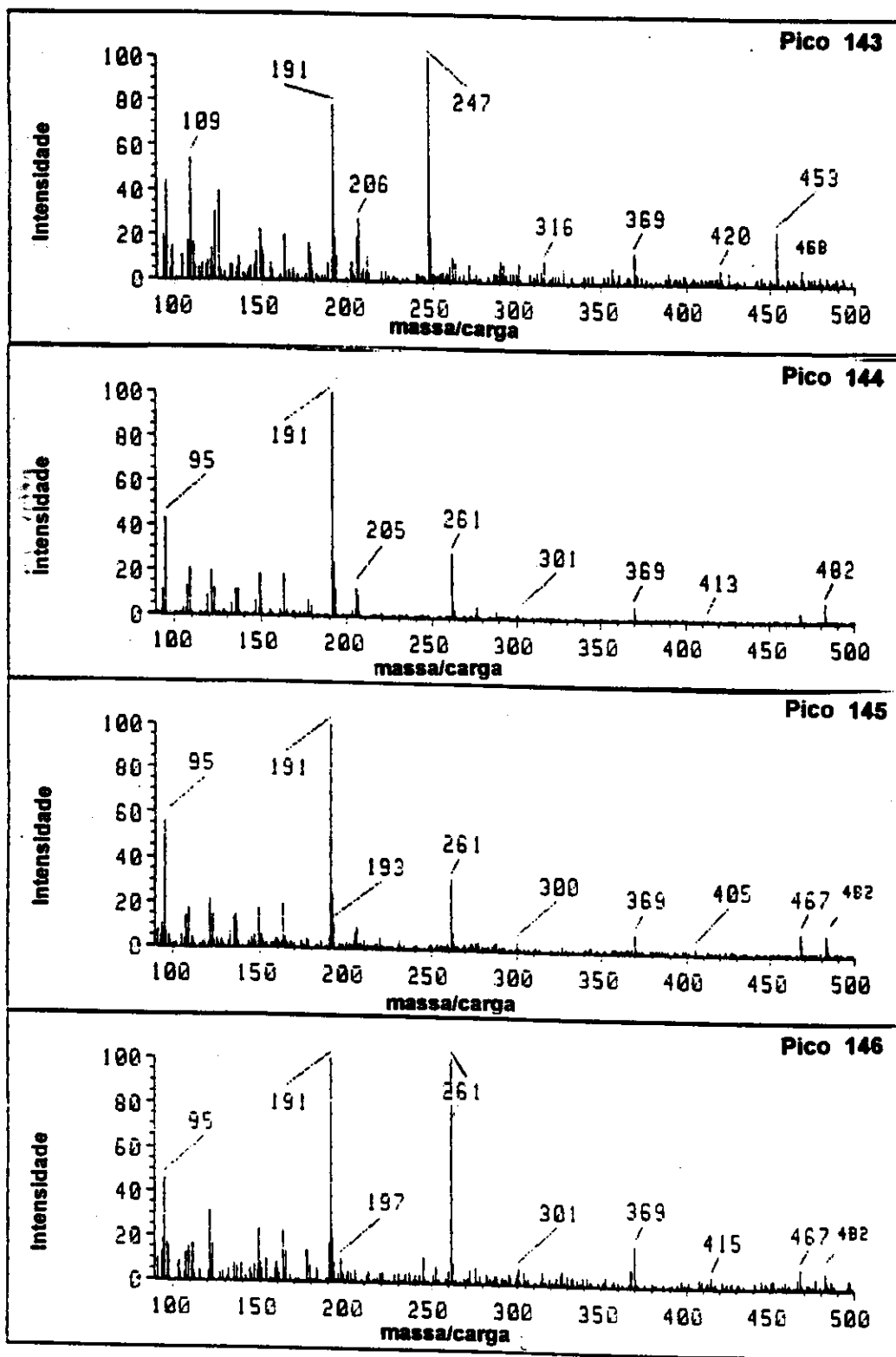


Figura 111: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos hopanóicos, correspondentes aos picos 143; 144, 145 e 146 da figura 35 (página. 68), descritos na tabela 13 (página 69)

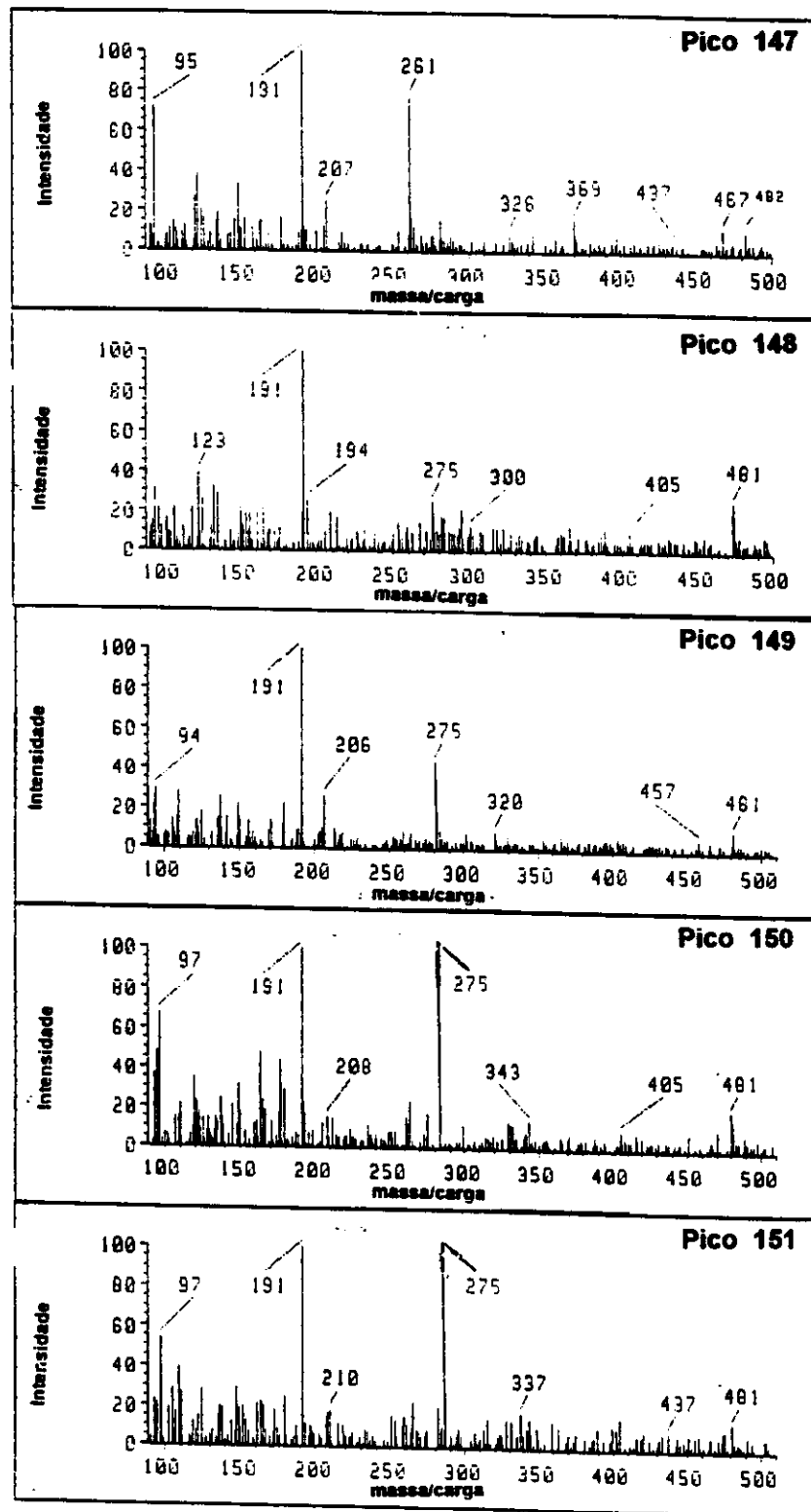


Figura 112: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos hopanóicos, correspondentes aos picos 147; 148, 149, 150 e 151 da figura 35 (página. 68), descritos na tabela 13 (página 69)

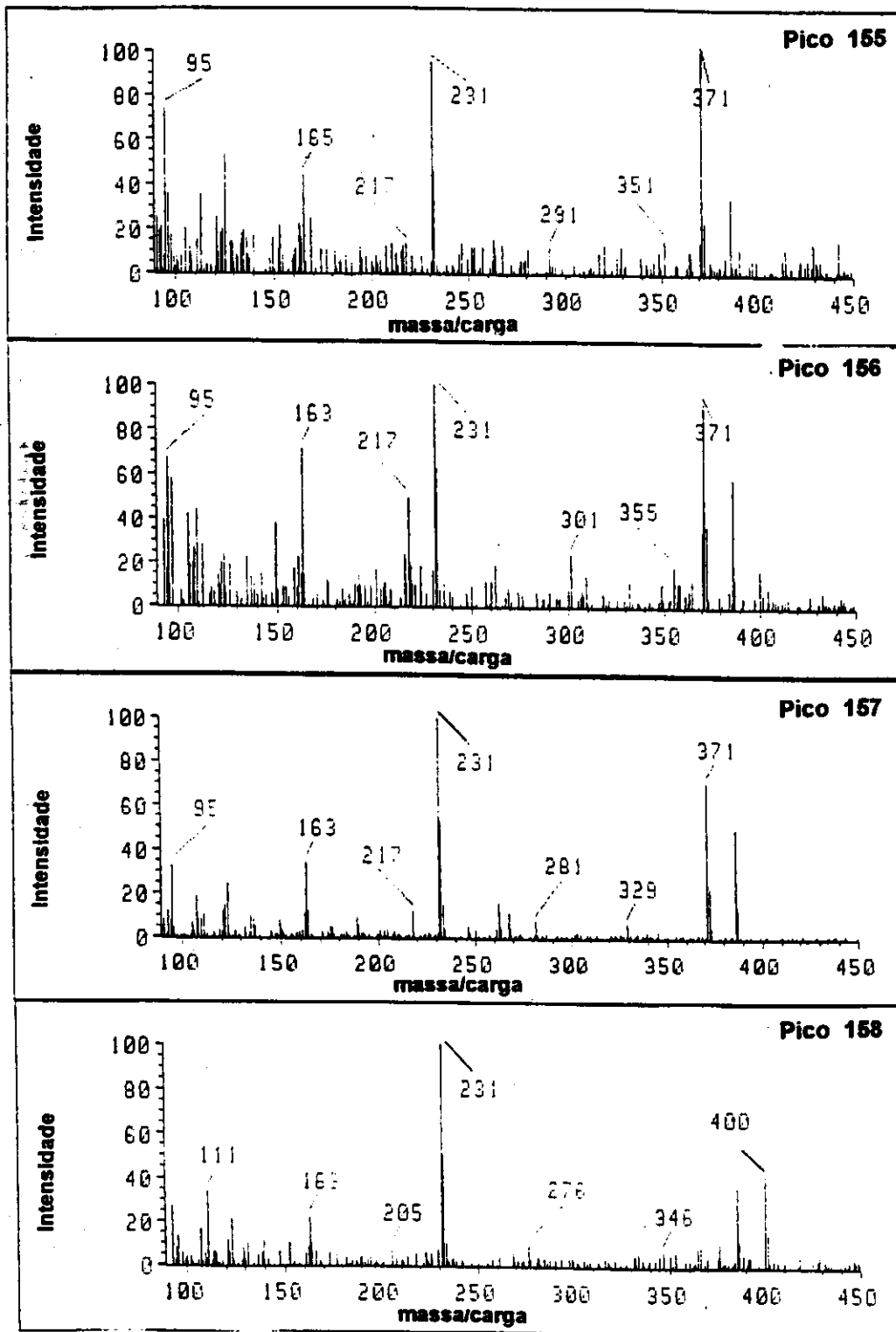


Figura 113: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranoicos, correspondentes aos picos 155; 156, 157 e 158 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

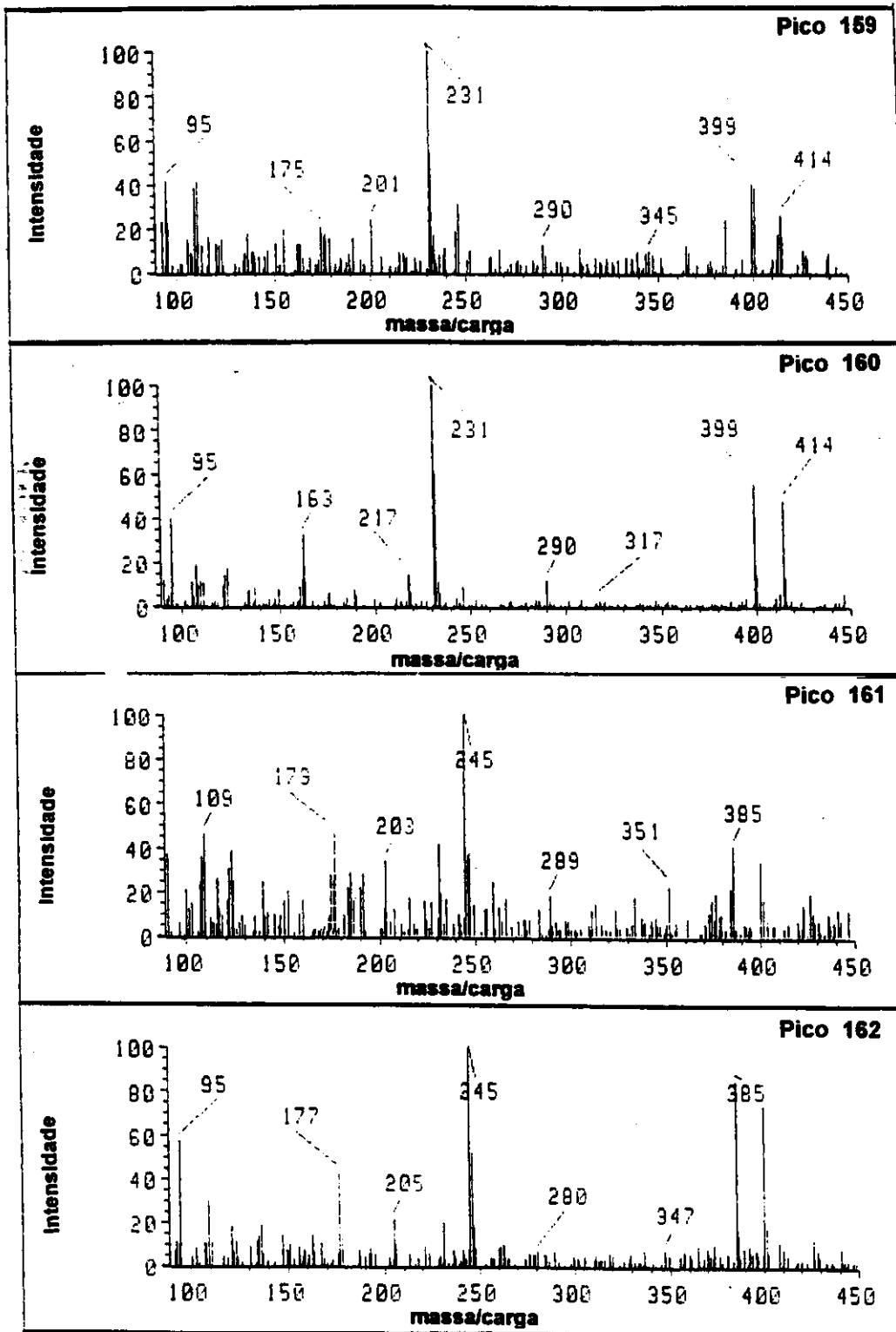


Figura 114: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranoicos, correspondentes aos picos 159; 160. 161 e 162 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

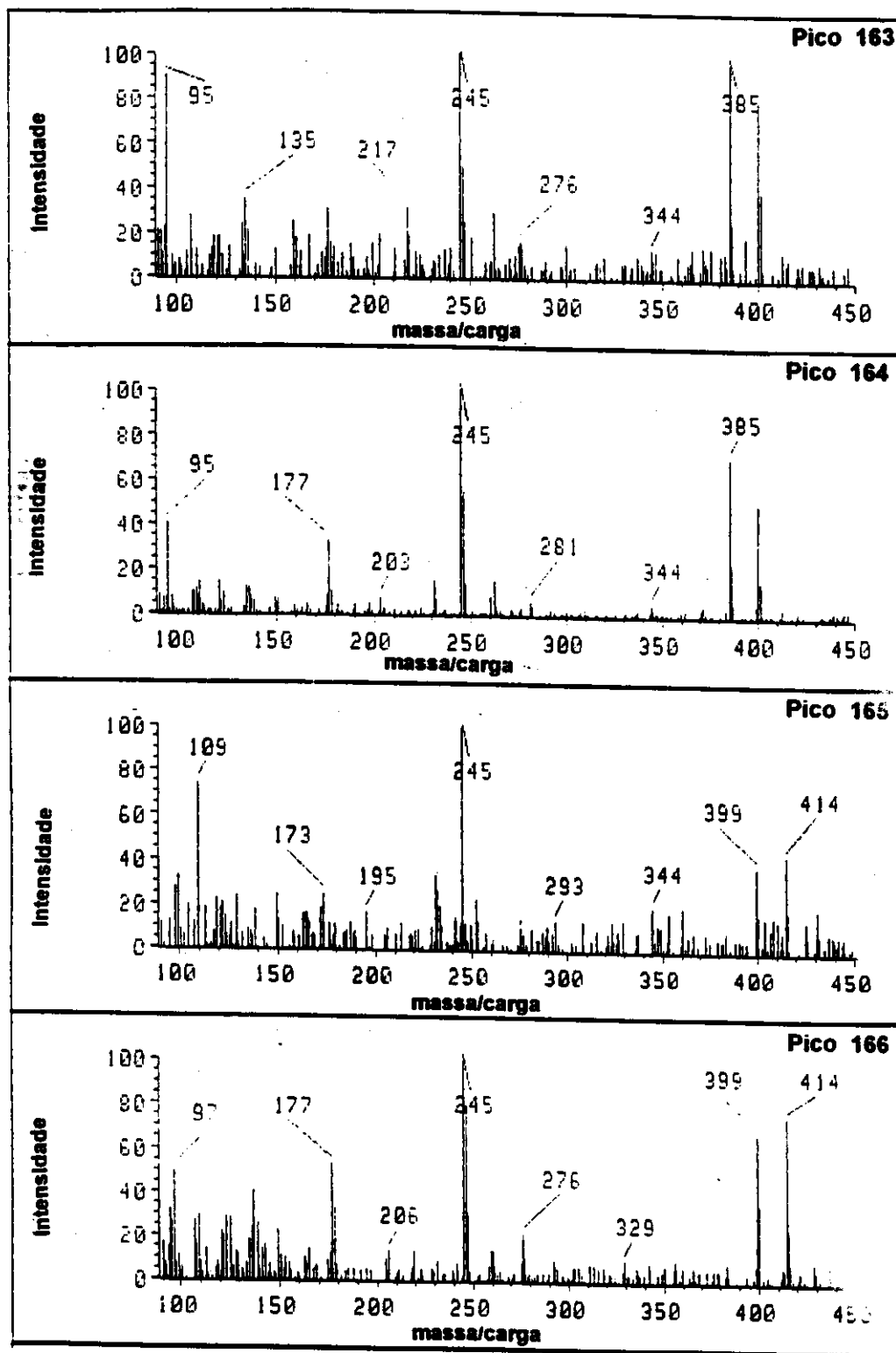


Figura 115: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranóicos, correspondentes aos picos 163; 164, 165 e 166 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

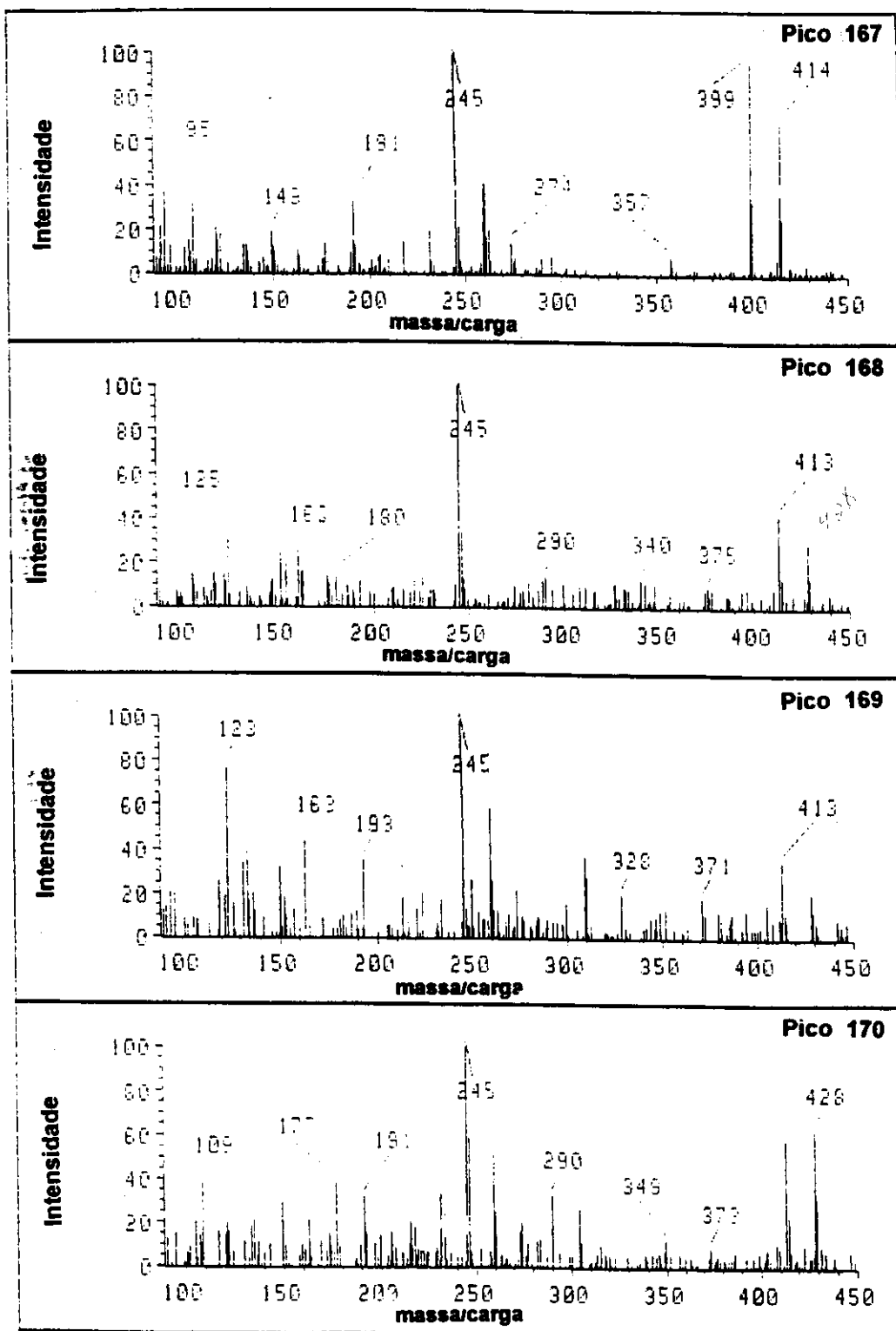


Figura 116: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranóicos, correspondentes aos picos 167; 168, 169 e 170 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

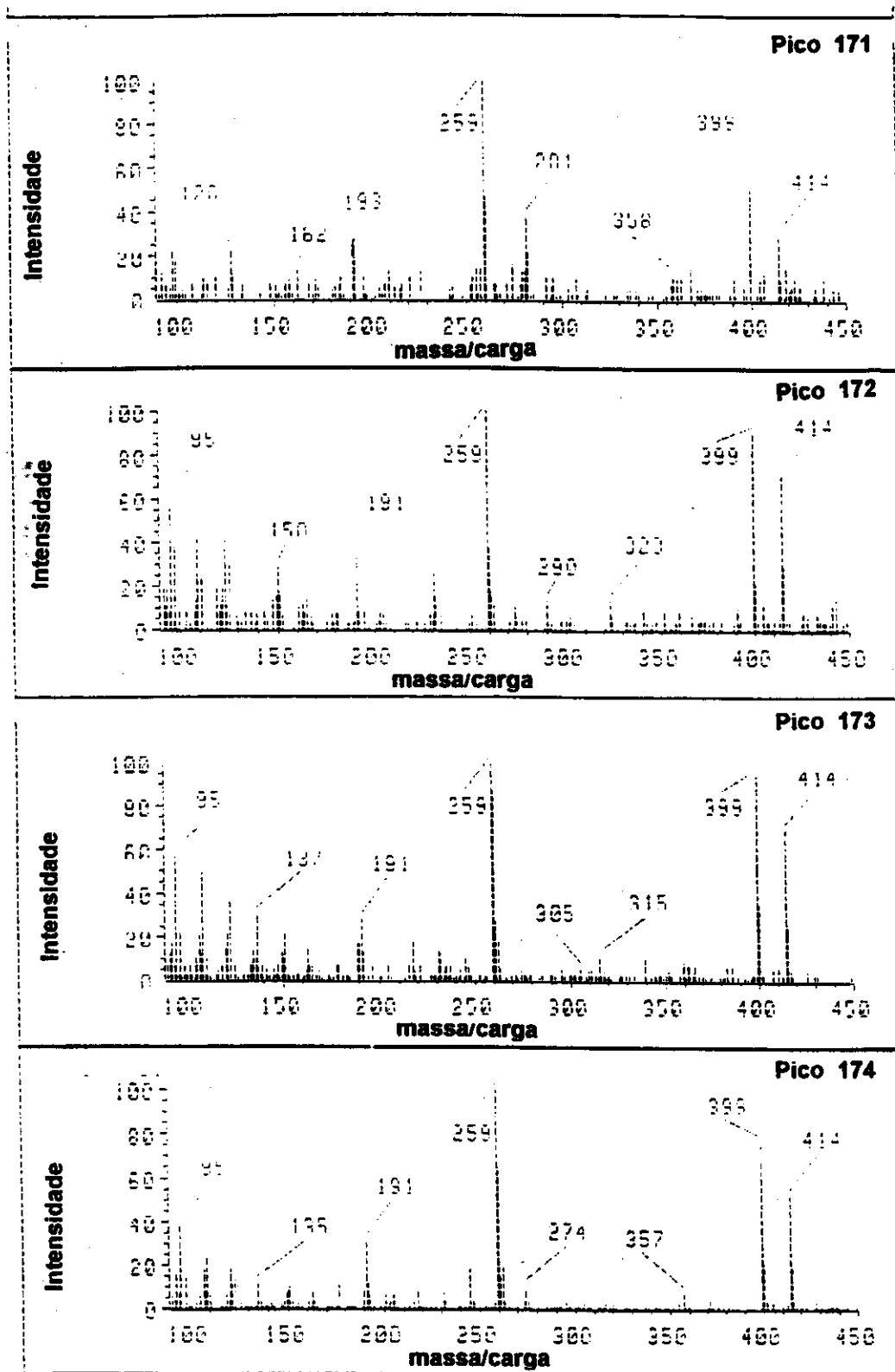


Figura 117: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranóicos, correspondentes aos picos 171; 172, 173 e 174 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

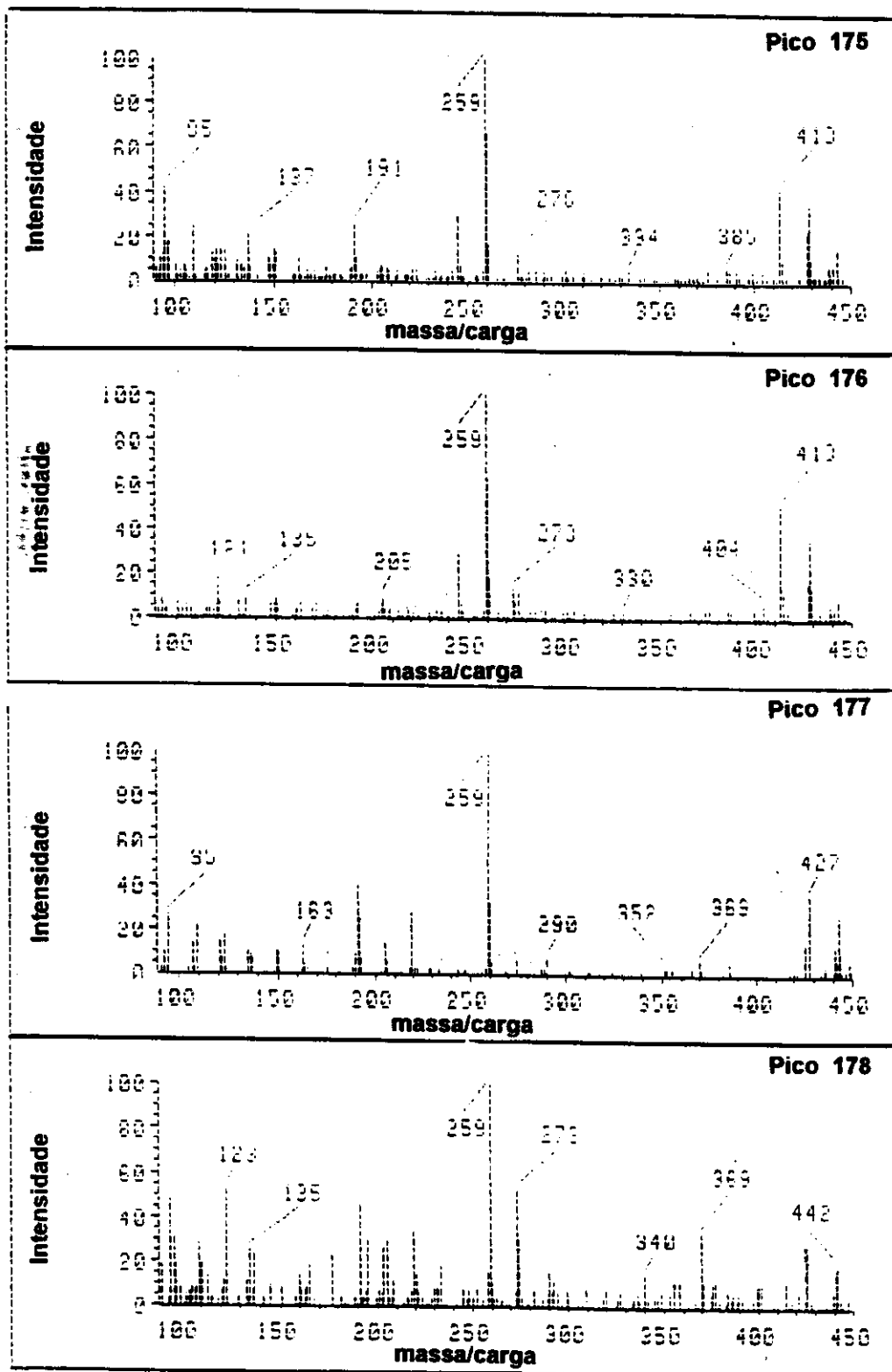


Figura 118: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranoicos, correspondentes aos picos 175; 176, 177 e 178 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

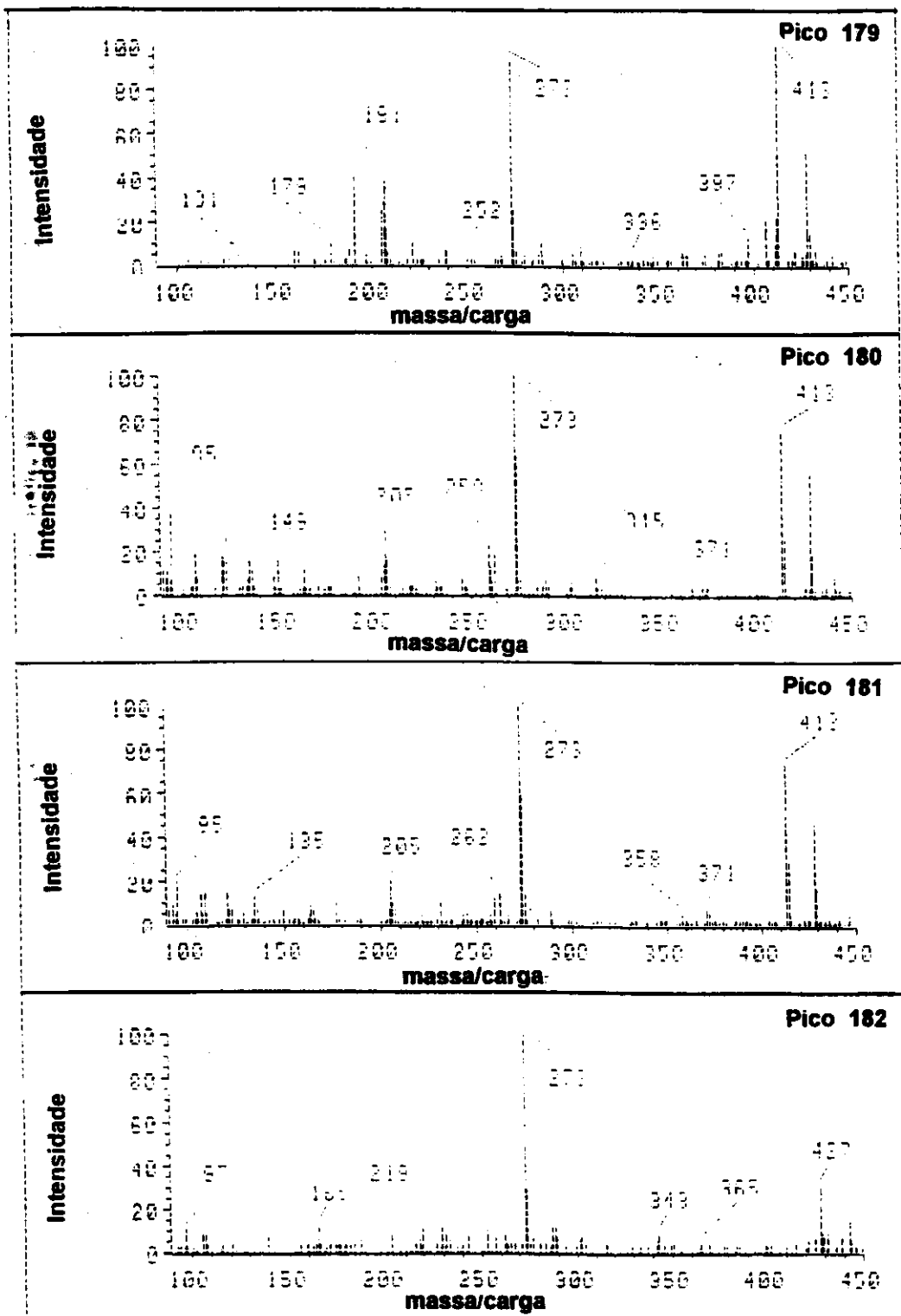


Figura 119: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranóicos, correspondentes aos picos 179; 180, 181 e 182 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

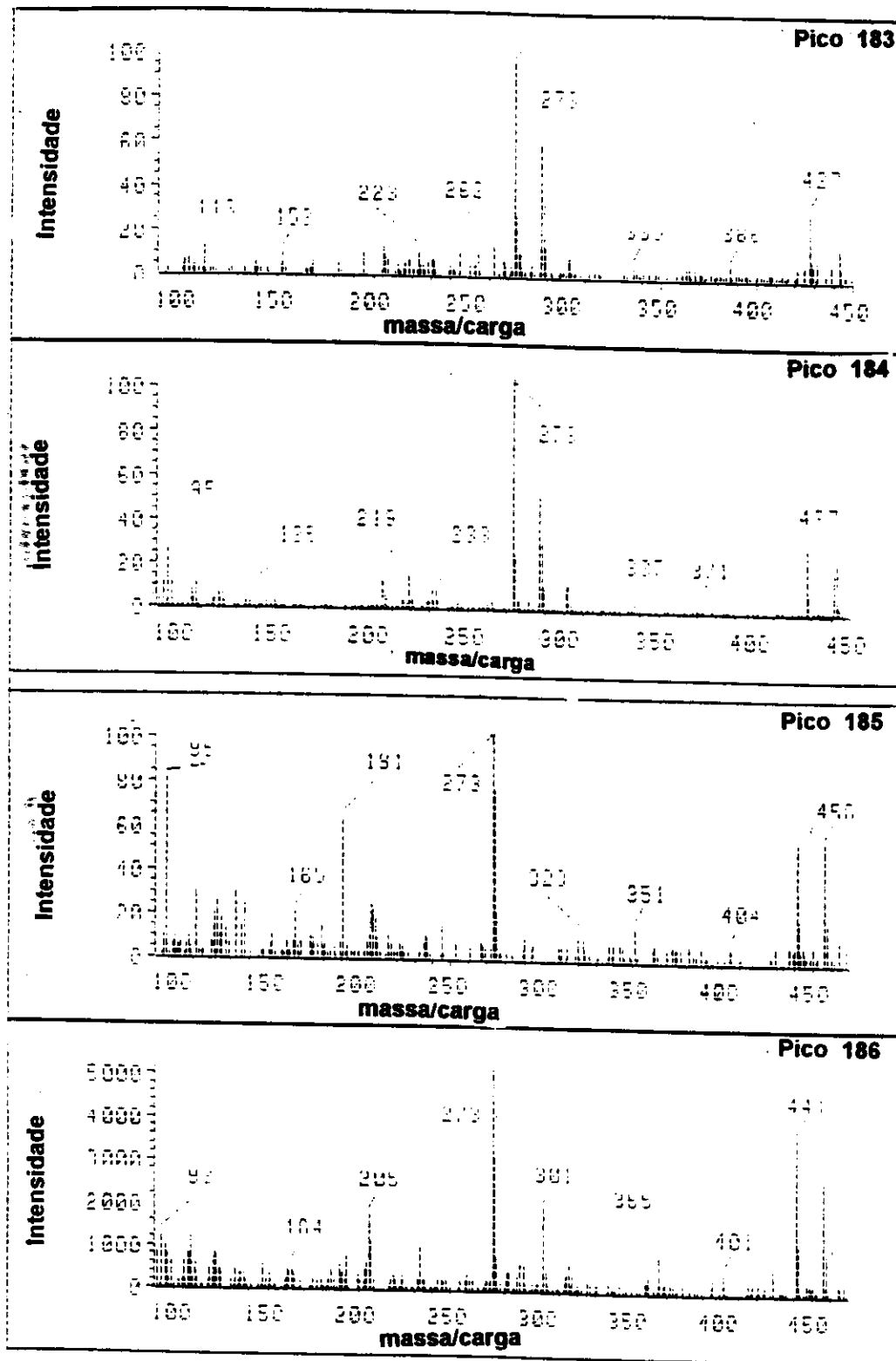


Figura 120: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranoicos, correspondentes aos picos 183; 184, 185 e 186 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

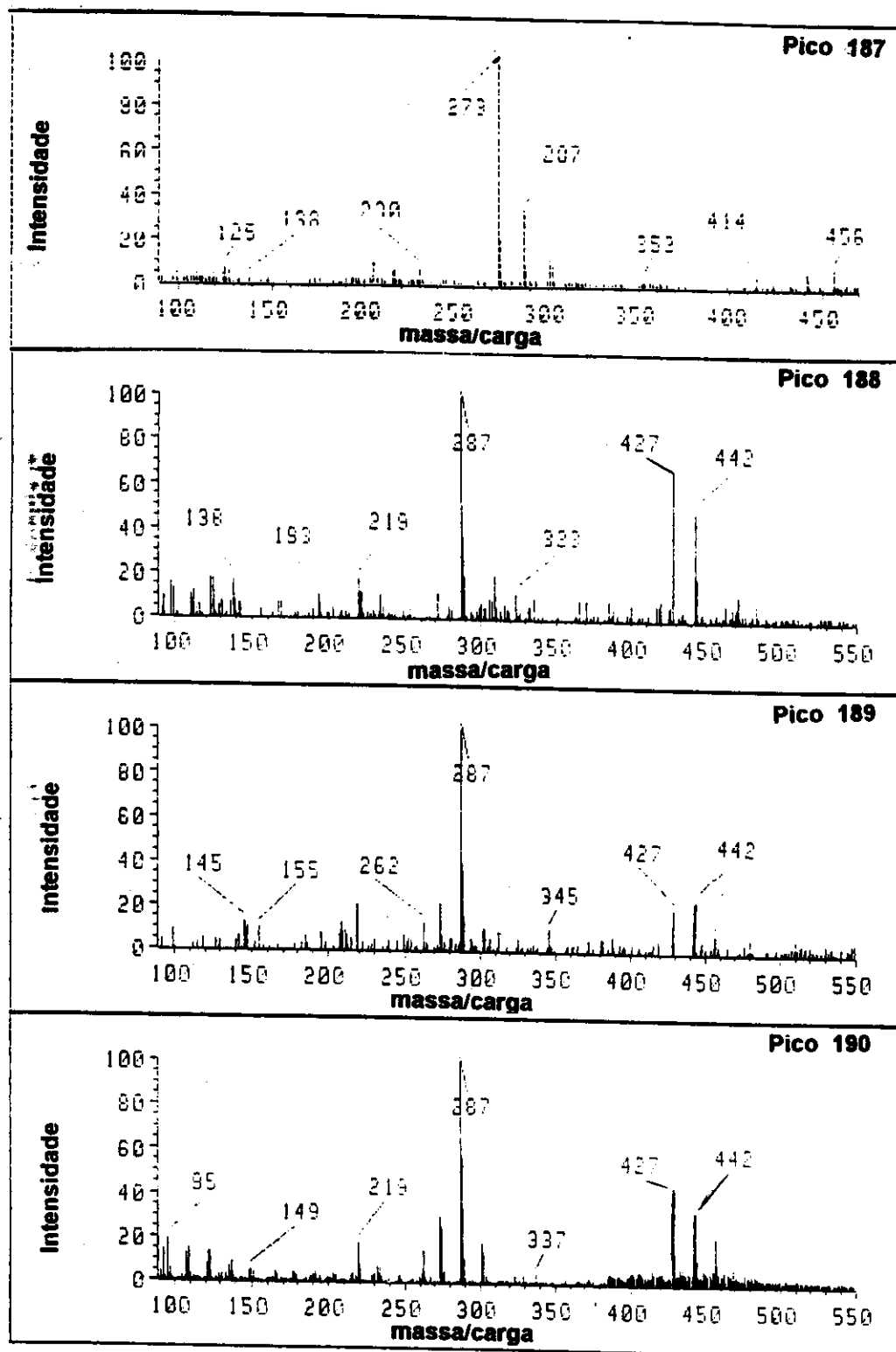


Figura 121: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranóicos, correspondentes aos picos 187; 188, 189 e 190 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

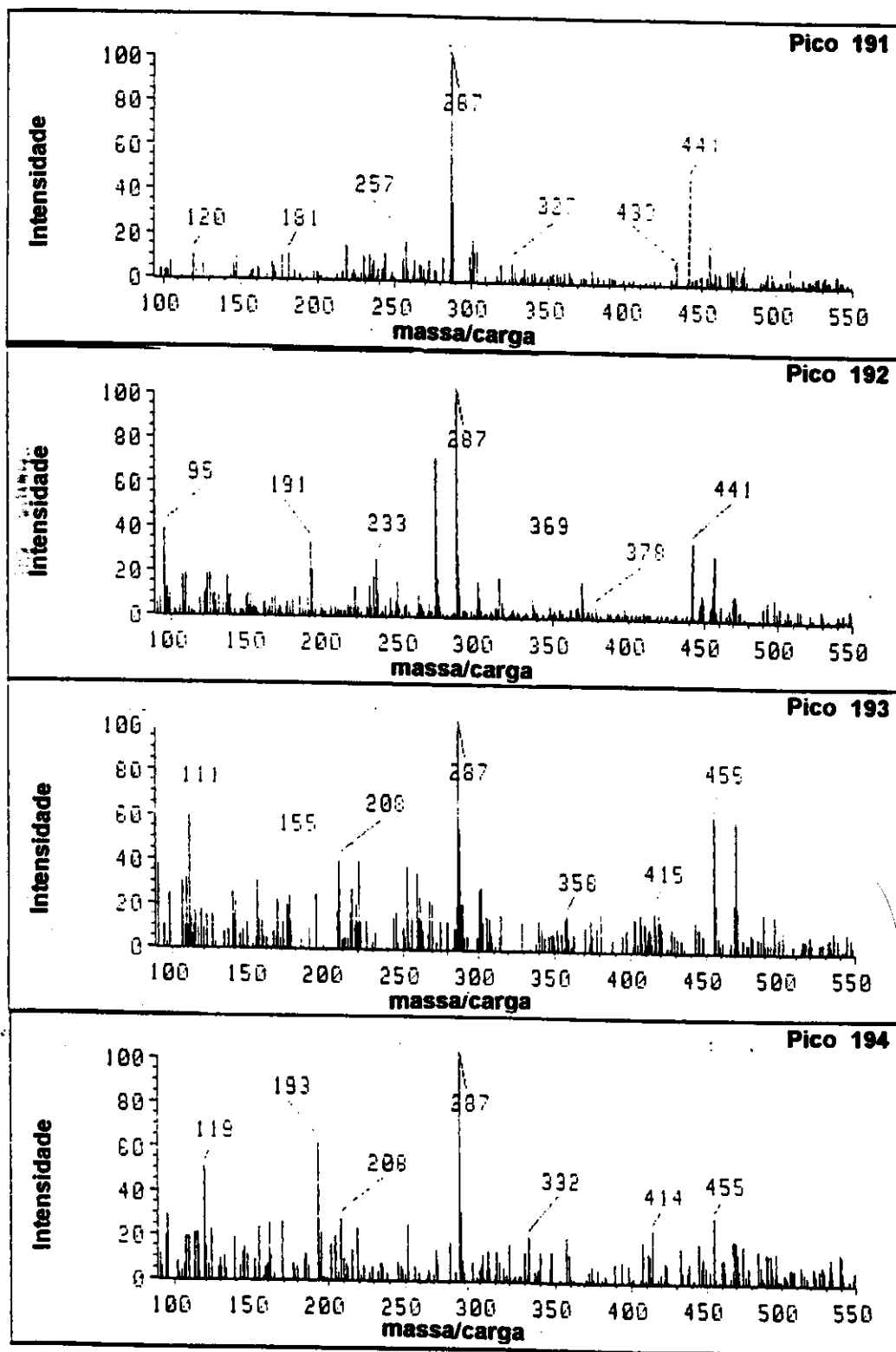


Figura 122: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranóicos, correspondentes aos picos 191; 192, 193 e 194 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

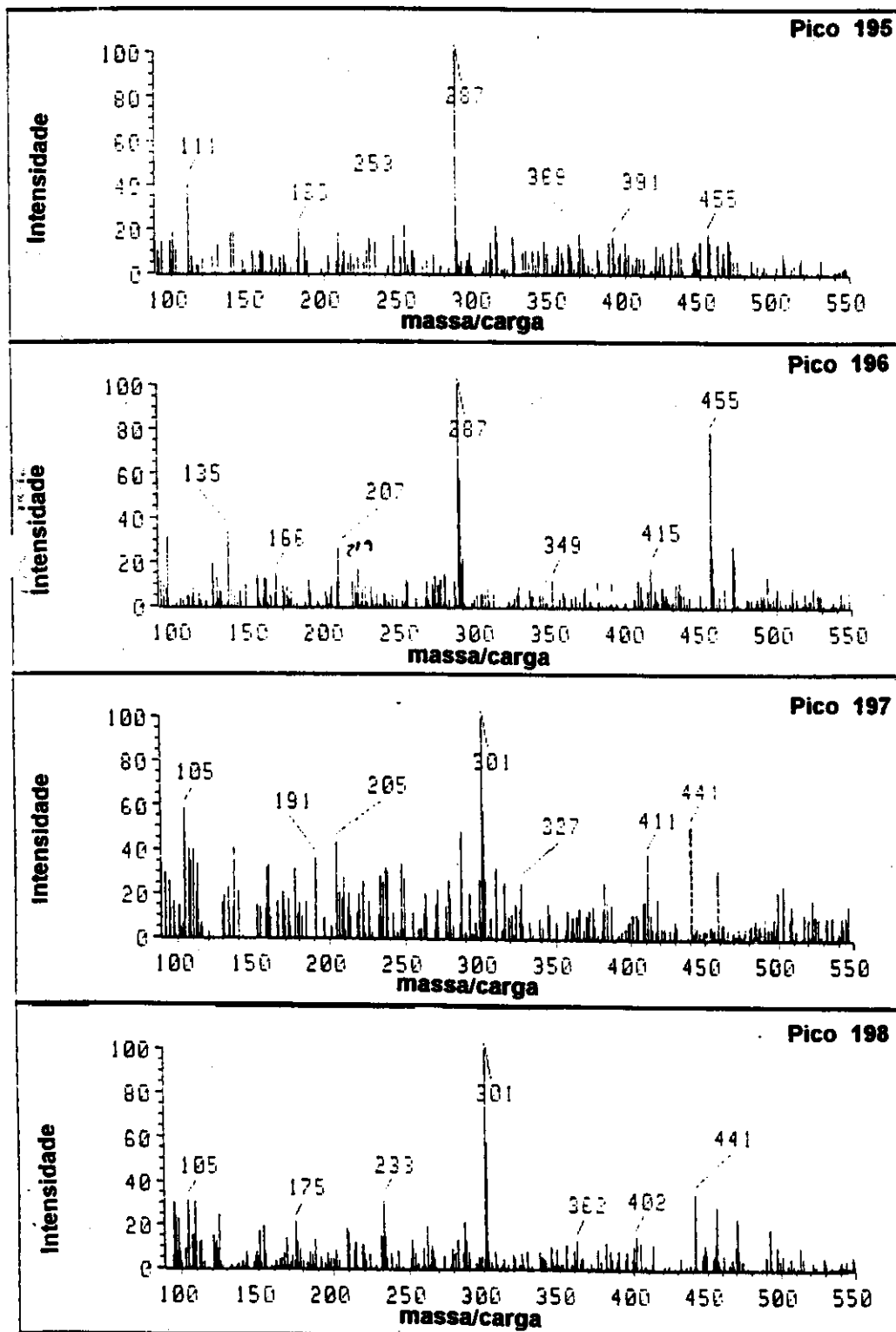


Figura 123: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranoicos, correspondentes aos picos 195; 196, 197 e 198 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)

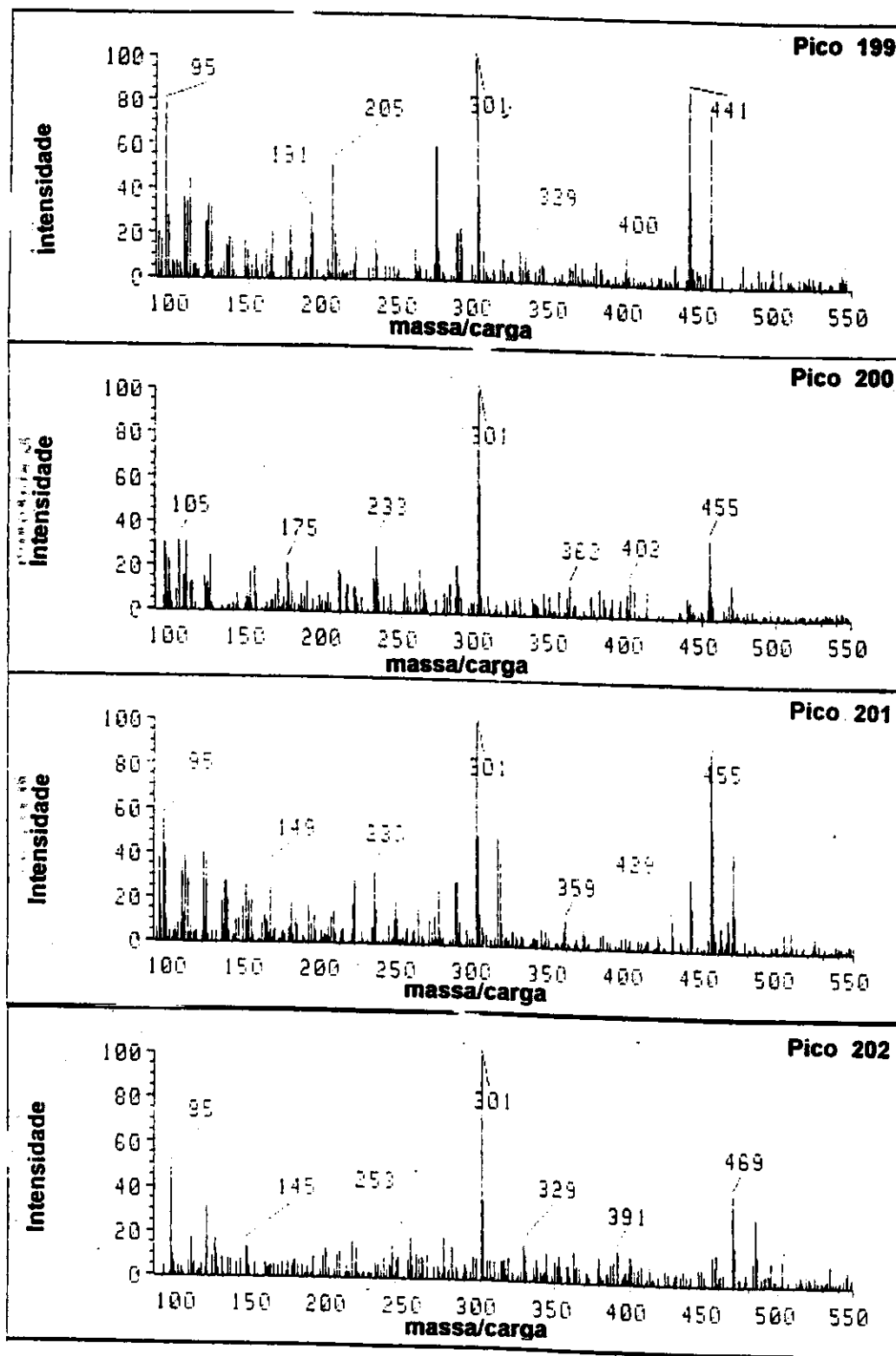


Figura 124: Espectros de massas dos hidrocarbonetos derivados dos ácidos alquil esteranoicos, correspondentes aos picos 199; 200, 201 e 202 da figura 44 (página. 77), descritos na tabela 15 (páginas 77 e 78)