



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FABIO XAVIER ANTUNES SAMPAIO

**OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE MARCADORES SULFURADOS EM
AMOSTRAS DE PETRÓLEO POR GC-MS/MS**

Salvador
2020

FABIO XAVIER ANTUNES SAMPAIO

**OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE MARCADORES SULFURADOS EM
AMOSTRAS DE PETRÓLEO POR GC-MS/MS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Elisabete Machado

Salvador
2020



TERMO DE APROVAÇÃO

FÁBIO XAVIER ANTUNES SAMPAIO

"OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE
MARCADORES SULFURADOS EM AMOSTRAS DE PETRÓLEO POR GC-MS/MS"

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre(a) em Química,
Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof.ª Dr.ª Maria Elisabete Machado *Maria Elisabete Machado*
Doutorado em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
Universidade Federal da Bahia

Prof.ª Dr.ª Karina Santos Garcia *Karina Santos Garcia*
Doutorado em Geociências, Universidade Federal Fluminense (UFF)
Universidade Federal da Bahia

Prof.ª Dr.ª Vânia Palmeira Campos *Vânia P. Campos*
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Prof.ª Dr.ª Gabriela Pereira da Silva Maciel *Gabriela Pereira da Silva Maciel*
Doutorado em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Salvador, 26 de agosto de 2020.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de
Ciências e Tecnologias Prof. Omar Catunda, SIBI - UFBA.

S192 Sampaio, Fábio Xavier Antunes
Otimização de metodologia analítica para determinação de
marcadores sulfurados em amostras de petróleo por GC-
MS/MS. / Fábio Xavier Antunes Sampaio – Salvador, 2020.
116 f.

Orientadora: Prof. Dr^a Maria Elisabete Machado

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia.
Instituto de Química, 2020.

1. Petróleo. 2. GC-MS/MS. 3. Análise cromatográfica. I.
Machado, Maria Elisabete. II. Universidade Federal da Bahia.
III. Título.

CDU 543.42

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que diante das maiores adversidades continuou me dando força e esperança para que esse momento chegasse.

Ao professor José Roberto Cerqueira pela disposição e contribuições da parte geoquímica do petróleo.

Ao projeto “Sistemas Petrolíferos de Bacias Sedimentares Brasileiras” (UFBA/Shell Brasil/ANP) pelo auxílio financeiro que permitiu a realização deste trabalho.

As profissionais do LEPETRO pelo auxílio no trabalho desenvolvido no laboratório em especial a Sara, Regina, Carol, Larissa, Lili e Jucy.

Aos colegas do GPC, Geisa, Pedro, Jaqueline, Ricardo, Carolina e a minha amiga Luise, parceira desde a graduação.

Aos Diretores do IFBAIANO, Alaécio e Geraldo e colegas do Complexo de laboratório do Campus Senhor do Bonfim, Luana, Marciene, Uitamara, Karmile, e em especial Marília, pela amizade e contribuições que vem desde o TCC.

A minha amada Aline pela compreensão, companheirismo e auxílio.

A minha irmã Tuty e minha querida mãe Edinalva pela compreensão devido a minha ausência nessa fase e o apoio incondicional, amo vocês.

A minha orientadora, Maria Elisabete Machado pela paciência, atenção e por compartilhar tanto conhecimento.

Ao professor Sergio Luis Costa Ferreira por ter me apresentado a melhor orientadora que eu poderia ter.

Meu muito obrigado!!

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	OBJETIVOS	2
1.1.1	Objetivo Geral	2
1.1.2	Objetivos Específicos	3
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	PETRÓLEO	4
2.1.1	Marcadores sulfurados em amostras de petróleo	7
2.1.2	Técnicas de isolamento de marcadores sulfurados em petróleo	12
2.2	TÉCNICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE MARCADORES SULFURADOS EM PETRÓLEO	13
2.2.1	Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas	16
2.2.2	Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo	20
3	EXPERIMENTAL	27
3.1	REAGENTES E DEMAIS MATERIAIS	27
3.2	EQUIPAMENTOS	27
3.3	AMOSTRAS	28
3.4	ANÁLISE DE ENXOFRE TOTAL	28
3.5	PREPARO DOS PADRÕES	29
3.5.1	Preparo das amostras	30
3.6	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS	31
3.6.1	Condições cromatográficas para o sistema GC-MS/MS	31
3.6.2	Condições cromatográficas para o sistema de detecção	32
3.6.3	Estudo comparativo GC-MS/MS modo monitoramento seletivo de íons e monitoramento de reações múltiplas	36
3.7	ANÁLISE QUANTITATIVA	36
3.7.1	Linearidade	37
3.7.2	Precisão	37
3.7.3	Limite de detecção	38
3.7.4	Limite de quantificação	38

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1	ANÁLISE DO TEOR DE ENXOFRE TOTAL	39
4.2	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO GC-MS/MS	41
4.2.1	Modo de varredura total e Monitoramento Seletivo de íons	41
4.2.2	Modo de monitoramento de reações múltiplas	43
4.2.3	Comparação qualitativa entre o modo SIM e MRM	48
4.3	ANÁLISE QUANTITATIVA	61
4.3.1	Curva analítica	61
4.3.2	Limites de Detecção e de Quantificação	63
4.3.3	Determinação das concentrações dos compostos orgânicos sulfurados nas oito amostras de petróleo	64
4.4	RAZÕES DIAGNÓSTICAS BASEADAS EM MARCADORES SULFURADOS EMPREGADAS PARA AVALIAÇÃO GEOQUÍMICA	68
4.4.1	Parâmetros indicadores de ambiente deposicional	69
4.4.2	Parâmetros indicadores de evolução térmica	73
4.4.3	Parâmetros indicadores de biodegradação	77
5	CONCLUSÕES	80
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
7	PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA	95
8	ANEXO	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Razões diagnósticas de compostos sulfurados citadas na literatura e sua relação com o grau de maturidade, migração, ambiente deposicional do petróleo	9
Tabela 2.	Técnicas de detecção empregando cromatografia a gás e respectivas colunas cromatográficas para caracterização de marcadores orgânicos sulfurados em petróleo	14
Tabela 3.	Especificação dos padrões de compostos orgânicos sulfurados aromáticos empregados no presente estudo	29
Tabela 4.	Parâmetros experimentais selecionados para análise dos marcadores sulfurados no modo seletivo de íons (SIM) por GC-MS	33
Tabela 5.	Parâmetros experimentais de transições selecionados para análise dos marcadores sulfurados no modo Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM)	34
Tabela 6.	Resultado da análise de enxofre total para as oito amostras de óleo cru em estudo	39
Tabela 7.	Parâmetros cromatográficos otimizados no modo Monitoramento Seletivo de Íons (SIM) para a determinação dos compostos sulfurados estudados	42
Tabela 8.	Condições empregadas para análise de cada composto, na corrida GC-MS/MS (MRM), com informações sobre: tempo de retenção t_R , transições utilizadas, energias de colisão otimizada para cada transição monitorada	46
Tabela 9.	Parâmetros obtidos para equação da reta, coeficiente de correlação (R^2) e linearidade através da curva de calibração para os padrões dos marcadores sulfurados por GC-MS/MS, no modo MRM	62
Tabela 10.	Limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) obtidos para os marcadores sulfurados por GC-MS/MS	63
Tabela 11.	Concentração dos marcadores sulfurados em $\mu\text{g g}^{-1}$ nas oito amostras de óleo cru da bacia Potiguar por GC-MS/MS (MRM)	65
Tabela 12.	Razões diagnósticas para os marcadores sulfurados avaliados presentes nas oito amostras de petróleo da bacia Potiguar	68
Tabela 13.	Parâmetros de razões diagnósticas indicativas de ambiente deposicional das rochas geradoras dos petróleos avaliados	71

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema de geração de petróleo em função de ações de soterramento na bacia sedimentar 5
- Figura 2.** Estruturas das principais classes dos marcadores sulfurados presente no petróleo 8
- Figura 3.** Esquema de um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolar 16
- Figura 4.** **(a)** Cromatograma GC-MS no modo íon selecionado m/z 184, correspondente ao DBT. **(b)** Espectro de massas obtido no tempo de retenção do DBT. **(c)** Espectro do padrão DBT. 18
- Figura 5.** Esquema da composição de um analisador do tipo triplo quadrupolo 22
- Figura 6.** Esquema representativo do modo de operação de varredura íons produzidos 23
- Figura 7.** Esquema representativo do modo de operação de monitoramento de reações múltiplas 24
- Figura 8.** **(a)** Cromatograma GC-MS/MS no modo varredura de íons totais (SCAN) para o mix de padrões contendo os padrões com concentração de 1 mg L^{-1} e **(b)** cromatograma GC-MS/MS no modo íon seletivo (SIM) para o mix de padrões contendo os padrões com concentração de $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ 41
- Figura 9.** Resposta para cada transição MRM em função da energia de colisão (eV) empregada para os padrões de marcadores sulfurados em estudo 45
- Figura 10.** Cromatograma GC-MS/MS no modo MRM com as transições e energias otimizadas para o mix dos padrões ($0,25 \text{ mg L}^{-1}$). 47
- Figura 11.** **(a)** Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de benzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 134. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo. 50
- Figura 12.** Espectros de massas para os padrões (a) benzotiofeno (b) naftaleno e (c) C4-benzeno 51
- Figura 13.** **a)** Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de 3-metilbenzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 147. **(c)** Cromatograma no

modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo 52

Figura 14. **(a)** Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de 2,3-dimetilbenzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 162. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo 53

Figura 15. a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de 2,3,4-trimetilbenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 176. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo. 54

Figura 16. a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de dibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 184. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo. 55

Figura 17. a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de 4;-1-metildibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 198. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo. 56

Figura 18. a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de 4,6;- 2,4;- 1,4-dimetildibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 212. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo. 57

Figura 19. a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de 2,4,7-trimetildibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 226 e 211. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo 58

Figura 20. a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de 4,6-dietildibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 225 e 240. (c)

	Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo	59
Figura 21.	a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto " para o padrão de benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 234. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo	60
Figura 22.	Representação do perfil cromatográfico das oito amostras para os isômeros do metildibenzotiofenos	70
Figura 23.	Concentrações dos isômeros DBT e C1- DBT presente nas oito amostras da bacia Potiguar	72
Figura 24.	Gráfico das razões diagnósticas 2,4/1,4-DMDBT e 4,6/1,4-DMDBT empregadas para indicar maturidade térmica no óleo bruto da bacia Potiguar	75
Figura 25.	Gráfico da correlação entre as razões diagnóstica 2,4-/1,4-DMDBT e 4-MDBT/1-MDBT empregadas para indicar maturidade no óleo bruto da bacia Potiguar	76
Figura 26.	Gráfico da correlação entre as razões diagnóstica 4,6-/1,4-DMDBT e 4-MDBT/1-MDBT empregadas para indicar maturidade no óleo bruto da bacia Potiguar	76
Figura 27.	Concentrações dos isômeros DBT e C1- DBT e C2-DBT presentes nas oito amostras da bacia Potiguar	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abreviação/sigla	Nome por extenso
AED	<i>atomic emission detector</i> , detector de emissão atômica
BT	benzotiofeno
BNT	Benzonaftotiofeno
C _x -BT	benzotiofeno ligado x carbonos substituintes (x = quantidade de C)
C ₂₉ (S)/(S+R)	estereoisômeros R e S do esterano
C ₂₉ ααα e αββ/αββ+ααα	estereoisômeros αββ e ααα do esterano
CE	<i>collision energy</i> , energia de colisão
CID	<i>collision induced dissociation</i> , dissociação induzida por colisão
DB-1	fase estacionária 100% dimetilpolisiloxano
DB-17	fase estacionária polidimetilsiloxano com 50 % de grupos fenila
DB-5	fase estacionária 5% difenil – dimetilpolisiloxano
DBT	Dibenzotiofeno
C1-DBT	dibenzotiofeno ligado a um carbono substituinte
C2-DBT	dibenzotiofeno ligado a dois carbonos substituintes
DCM	Diclorometano
DEDBT	Dietildibenzotiofeno
DMDBT	dimetildibenzotiofeno
eV	elétron-volt
FID	<i>flame ionization detector</i> , detector de ionização por chama
GC	<i>gas chromatographic</i> , cromatografia gasosa
GC-AED	cromatografia a gás com detector por emissão atômica

GC-FID	cromatografia a gás com detector por ionização em chama
GCxGC	cromatografia gasosa bidimensional abrangente
GC-MS	<i>gas chromatography – mass spectrometry</i> , cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas
GC-MS/MS	<i>gas chromatography-triple quadrupole</i> , cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo
HS-SPME	<i>headspace solid-phase microextraction methodology</i> , micro extração em fase sólida <i>headspace</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LEC	<i>ligant-exchange chromatography</i> , cromatografia por troca de ligante
LEPETRO	Laboratório de Estudos do Petróleo
LOD	<i>Limit of detection</i> , limite de detecção
LOQ	<i>Limit of quantification</i> , limite de quantificação
MDBT	Metildibenzotiofeno
MRM	<i>multiple-reaction monitoring</i> , monitoramento de reações múltiplas
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i> , Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia
OSC	<i>organic sulfur compounds</i> , compostos orgânicos sulfurados
m/z	razão massa carga
NBT	Naftobenzodifeno
NSO	Nitrogênio, Enxofre e Oxigênio
PAH	<i>polycyclic aromatic hydrocarbons</i> , hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
PASH	<i>polycyclic aromatic sulfur heterocycles</i> , heterocícos sulfurados poliaromáticos
P.E	ponto de ebulição
Phen	<i>phenantrene</i> , fenantreno

PIS	<i>product ion scan</i> , modo varredura de íons produzidos
S	<i>sulfur</i> , enxofre
S _{Total}	enxofre total
SARA	Saturados, Aromáticos, Resinas e Asfaltenos
SCAN	modo varredura linear de íons da espectrometria de massas
SCD	<i>sulfur chemiluminescence detector</i> , detector de quimiluminescência de enxofre
SIM	<i>single ion monitoring</i> , monitoramento seletivo de íons
S/N	<i>ratio signal/noise</i> , razão sinal/ruído
t _R	tempo de retenção na coluna capilar
TMDBT	trimetildibenzotiofeno
Ts/Ts+Tm	razão dos biomarcadores dos terpanos pentacíclicos

RESUMO

Dibenzotiofeno (DBT), benzotiofeno (BT), seus homólogos alquilados e benzonaftobenzotiofenos (BNT) são importantes compostos orgânicos sulfurados (OSC) presentes em baixas concentrações no petróleo e empregados como marcadores de maturidade, biodegradação e ambiente deposicional. Tradicionalmente, a caracterização de OSC em óleos crus envolve várias etapas de preparo de amostra baseada na separação por grupos, de acordo com a polaridade dos compostos e subsequente análises das frações separadas por GC-MS. O objetivo do presente estudo foi empregar a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massa do tipo triplo quadrupolo (GC-MS/MS) para determinação e quantificação de marcadores pertencentes as classes BT, DBT e BNT em amostras de petróleo. Inicialmente, um método GC-MS/MS foi otimizado empregando um mix contendo quatorze padrões de OSC no modo de varredura total de íons (SCAN) para obtenção do espectro de massas, tempo de retenção de cada composto e separação cromatográfica. A otimização foi também realizada no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM) para posterior estudo comparativo nas amostras e, por fim, no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) para definir as energias da cela de colisão empregada neste modo operacional. O método otimizado foi aplicado inicialmente em uma amostra de petróleo, sem etapa prévia de fracionamento, de forma qualitativa em estudo comparativo, baseado na seletividade e intensidade de sinal a fim de verificar eficácia do método MRM frente ao modo SIM. Os resultados indicaram que a abordagem GC-MS/MS no modo MRM alcançou maior especificidade e sensibilidade para determinação dos OSC. O método MRM foi então aplicado para a quantificação de oito amostras de petróleo da Bacia Potiguar, sem etapas de fracionamento. Por fim, razões diagnósticas, baseadas nos marcadores sulfurados como: DBT/Phen; 4-/1-MDBT; 2,4-/1,4 DMDBT; 4,6-/1,4-DMDBT; 1-MDBT/DBT foram calculadas e interpretadas. O método otimizado GC-MS/MS no modo MRM eliminou a necessidade de fracionamento e foi eficiente para a quantificação dos marcadores OSC, representando um avanço analítico na área de marcadores sulfurados em amostras de petróleo. Além disso, permitiu avaliar através das razões diagnósticas, juntamente com outros parâmetros, o grau de maturidade, biodegradação e ambiente deposicional nas amostras de petróleo da Bacia Potiguar.

Palavras-chave: GC-MS/MS, marcadores orgânicos sulfurados, petróleo.

ABSTRACT

Dibenzothiophene (DBT), benzothiophene (BT), its alkylated homologous and benzonaphthobenzothiophenes (BNT) are important organic sulfur compounds (OSC) present in low concentrations in oil and used as markers of maturity, biodegradation and depositional environment. Traditionally, the characterization of OSC in crude oils involves several steps of sample preparation based on the separation by groups, according to the polarity of the compounds and subsequent analysis of the fractions separated by GC-MS. The aim of the present study was to employ gas chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS) to determine and quantify markers to BT, DBT and NT classes in oil samples. Initially, a GC-MS/MS method was optimized using a mix containing fourteen OSC patterns in full ion scanning mode (SCAN) to obtain the mass spectrum, retention time of each compound and chromatographic separation. The optimization was also carried out in the ion selective monitoring mode (SIM) for comparative study of the samples and finally the multiple reaction monitoring (MRM) mode to define the collision cell energy used in this operational mode. The optimized method was initially applied to a petroleum sample, with no previous fractionation stage, in a qualitative way in a comparative study, based on selectivity and signal intensity in order to verify the effectiveness of the MRM method compared to the SIM mode. The results of the SIM and MRM modes indicated that the GC-MS/MS approach in the MRM mode achieved greater specificity and sensitivity for determining the OSC. The MRM method was then applied to quantify eight oil samples from the Potiguar Basin without fractionation steps. Finally, diagnostic reasons, based on sulfur markers such as: DBT/Phen; 4-/1-MDBT; 2.4-/1.4 DMDBT; 4,6-/1,4-DMDBT; 1-MDBT/DBT were calculated and interpreted. The optimized method GC-MS/MS method in MRM mode eliminated the need for fractionation and was efficient for the quantification of OSC markers, representing an analytical advance in the area of the sulfur markers in petroleum samples. In addition, it was possible to assess, through diagnostic reasons, together with other parameters, the degree of maturity, biodegradation and depositional environment in oil samples from the Potiguar Basin.

Keywords: GC-MS/MS, sulfur organic markers, petroleum.

1. INTRODUÇÃO

O petróleo, também conhecido como óleo cru, é constituído por centenas de milhares de compostos como hidrocarbonetos alifáticos, alicíclicos e aromáticos e em menores concentrações compostos contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio, além dos metais em níveis de traços ^{1,2}. Estima-se que mais de dez mil compostos estejam presentes apenas na fração intermediária do petróleo ³.

Os compostos orgânicos de enxofre (do inglês, *organic sulfur compounds* - OSC) são os mais abundantes entre os heteroátomos presentes no petróleo e representam, em termos gerais, entre 0,03 a 6 % de enxofre total (S_{Total}) ². O petróleo brasileiro contém baixo teor de enxofre (S), com concentrações abaixo de 1 % ^{4,5}. A composição e concentração de OSC no óleo cru é afetada pelas características de ambiente deposicional (terrestre, lacustre e/ou marinha), maturidade e grau de biodegradação do petróleo ² os quais são determinados através dos chamados marcadores geoquímicos.

Os principais marcadores baseados em OSC são os tiofenos ligados a anéis aromáticos e denominados heterocíclicos sulfurados aromáticos policíclicos (do inglês, *polycyclic aromatic sulfur heterocycles* - PASH), que consistem nas classes de compostos benzotiofenos (BT), dibenzotiofenos (DBT) e benzonaftotiofenos (BNT) ^{2,6-9}. Por exemplo, razões diagnósticas baseadas em DBTs são empregadas para avaliar a maturidade, abundância dos DBTs e BNTs indicam nível de biodegradação de petróleo e ambiente deposicional.

Devido aos baixos níveis de concentração dos marcadores sulfurados e da complexidade das amostras de petróleo, etapas de isolamento e/ou fracionamento são necessárias. A separação ocorre de acordo com as características químicas dos interferentes e compostos de interesse, sendo empregadas técnicas cromatográficas instrumentais convencionais, como por exemplo, a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (do inglês, *gas chromatography – mass spectrometry* - GC-MS) ¹⁰.

A GC-MS no modo monitoramento seletivo de íons (SIM) é a técnica tradicionalmente empregada para analisar os OSC em estudos de marcadores sulfurados e para a obtenção das razões diagnósticas ¹¹.

Nos últimos anos, a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo (do inglês, *gas chromatography-triple quadrupole* - GC-MS/MS) tem sido empregada para desenvolver métodos mais seletivos e sensíveis para analisar compostos em nível de traço ^{12, 13}. O uso de MS/MS permite que muitos dos interferentes sejam minimizados ou mesmo eliminados, aumentando a razão sinal/ruído (do inglês, *signal/noise* - S/N). O modo de operação de monitoramento de reações múltiplas (MRM) envolve duas etapas de seleção de íons e por isso é altamente seletivo e sensível, ideal para quantificação e confirmação, especialmente na análise de traços, o que o torna uma ferramenta poderosa quando comparado ao modo SIM.

Há poucos trabalhos na literatura usando GC-MS/MS para a determinação de marcadores OSC em petróleo ^{14, 15}. Os estudos existentes empregaram amostras sem etapas prévias de fracionamento, porém, o número de OSC é limitado a uma subclasse (MDBT) ¹⁴ ou então não é específico para OSC e os autores não enfatizam a parte quantitativa bem como as razões diagnósticas obtidas ¹⁵. Há ainda o emprego da técnica GCxGC-MS/MS ¹⁶, neste estudo os autores avaliaram dezesseis OSC, porém a quantificação foi por subclasse de compostos e não individual, além de não ser focado em marcadores.

Este trabalho tem como objetivo otimizar uma metodologia analítica por GC-MS/MS para quantificar marcadores de OSC pertencentes as classes BT, DBT e BNT em amostras de petróleo sem fracionamento prévio. Além de realizar uma avaliação geoquímica baseada nas razões diagnósticas de marcadores, selecionados para caracterização geoquímica dos petróleos analisados.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar uma metodologia analítica por GC-MS/MS para quantificar marcadores de OSC pertencentes as classes BT, DBT e BNT em amostras de petróleo sem fracionamento prévio. Avaliar as razões diagnósticas dos marcadores selecionados para caracterização geoquímica dos petróleos analisados.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar um método de análise por GC-MS/MS empregando padrões analíticos para a determinação dos marcadores de interesse;
- Aplicar o método otimizado em uma amostra de petróleo, sem etapa prévia de fracionamento, de forma qualitativa em estudo comparativo, baseado na seletividade e intensidade de sinal a fim de verificar eficácia do método MRM frente ao modo SIM.
- Realizar um estudo quantitativo no modo MRM em oito amostras de petróleo da bacia Potiguar, sem etapa e fracionamento.
- Empregar razões de marcadores orgânicos sulfurados a fim de calcular e interpretar parâmetros de ambiente deposicional, evolução térmica e biodegradação nas oito amostras de petróleo em estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PETRÓLEO

O petróleo e o termo equivalente óleo cru podem ser definidos como uma mistura complexa constituído de centenas de milhares de compostos² predominantemente formados por hidrocarbonetos (alifáticos, alicíclicos e aromáticos) e em menores proporções, compostos contendo nitrogênio, oxigênio e enxofre, além de metais em níveis de traços¹. Embora a composição do petróleo apresente variações entre bacias sedimentares e mesmo dentro do mesmo sistema petrolífero, a sua composição elementar básica apresenta pouca variação de uma fonte para outra ¹⁷. O petróleo ocorre no subsolo, a várias pressões, dependendo da profundidade. Devido à pressão, contém considerável quantidade de gás natural em solução. O petróleo subterrâneo é muito mais fluído do que na superfície e geralmente é móvel em condições de reservatório, porque as temperaturas elevadas (gradiente geotérmico) nas formações subterrâneas diminuem a viscosidade ¹⁸. Embora o gradiente geotérmico varie de um lugar para outro, geralmente é da ordem de 25°C - 30°C km⁻¹.

O petróleo possui origem na matéria orgânica (principalmente animais e vegetais aquáticos) que foram depositadas em bacias sedimentares ao longo de milhões de anos. Devido a ação do soterramento progressivo, essa matéria orgânica passa por transformações biológicas, físicas, químicas e geoquímicas com a sua consequente maturação térmica ¹⁷. Essa transformação da matéria orgânica para geração do óleo e gás abrange três etapas principais de transformação: diagênese, catagênese e metagênese (**Figura 1**); assim, a partir desse processo são gerados todos os tipos de hidrocarbonetos.

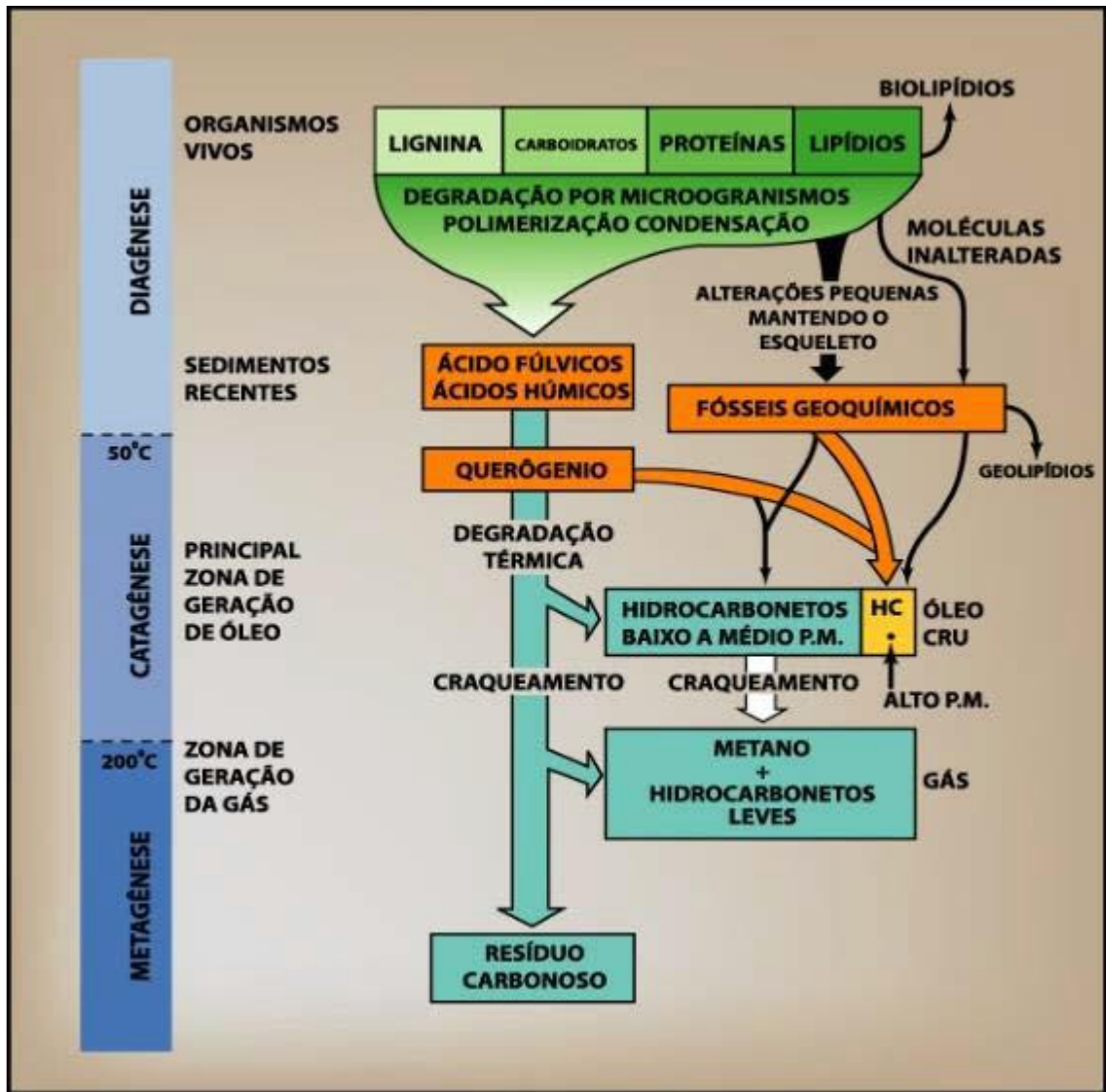


Figura 1: Esquema de geração de petróleo em função de ações de soterramento na bacia sedimentar. Fonte: adaptado de Tissot e Welte¹⁷.

A diagênese corresponde ao primeiro estágio de evolução térmica e ocorre em condições de baixa temperatura e pressão. Nessa fase, um dos principais agentes de transformação da matéria orgânica é a atividade microbiana, em que os lipídios, proteínas, carboidratos e ligninas são transformados em querogênio, parte da matéria orgânica sedimentar que não solubiliza em solventes orgânicos. As rochas geradoras são denominadas imaturas nessa etapa de evolução térmica.¹⁷

Depois da diagênese, acontece a elevação da temperatura e pressão onde o querogênio é soterrado e degradado para a formação do petróleo, classificada como a fase de evolução denominado catagênese¹⁷. Nessa etapa transformações químicas

(craqueamento catalítico), reações de isomerização, aromatização, descarboxilação e desproporcionamento acontecem. Esta zona de maturidade é denominada como “janela de óleo”^{19,20}.

O terceiro estágio conhecido como metagênese está sob condições de soterramento e temperaturas ainda mais elevada com formação de hidrocarbonetos líquidos e gasosos de baixa massa molar.

Nesta fase de evolução térmica, os biomarcadores diminuem ou são degradados atribuído a sua instabilidade e condições de temperatura e pressão. Esta zona supermatura ou senil é conhecida como “janela de gás”²¹.

Com isso, o petróleo é expulso com a elevação da pressão tectônica na rocha geradora migrando para rochas de maior permeabilidade e porosidade, conhecidas como rochas reservatórias, processo conhecido como migração primária²⁰.

Gradualmente, a matéria orgânica se decompôs e finalmente formou petróleo que migrou dos leitos originais para rochas sedimentares mais porosas e permeáveis, como arenito e siltito, onde finalmente ficou retido. Essas acumulações de óleo aprisionadas são chamadas de reservatórios^{1, 22}. Uma série de reservatórios dentro de uma estrutura de rocha comum ou uma série de reservatórios em formações separadas, porém vizinhas é comumente referida como um campo de petróleo. Um grupo de campos é frequentemente encontrado em um único ambiente geológico conhecido como bacia sedimentar.

O petróleo é a mistura orgânica mais complexa em termos de composição na química analítica, estima-se que mais de dez mil compostos estejam presentes apenas na fração intermediária do petróleo (com P.E. de 150 a 450 °C)³. Assim, estudos que possibilitem uma avaliação qualitativa e quantitativa do óleo cru é de grande interesse na exploração, extração e refino de petróleo.

De particular importância ao realizar essas avaliações é determinar a abundância e especiação dos compostos heteroatômicos, nitrogênio, enxofre e oxigênio (NSO) pois esses compostos são notórios por sua toxicidade para o ambiente, por destruir catalisadores de processamento e diminuir a estabilidade de produtos petrolíferos^{2, 23}. Além disso, e de particular importância neste estudo, é a identificação de classes específicas de sulfurados que são empregadas como

marcadores em estudos geoquímicos de exploração de petróleo e indicam grau de maturidade ²⁴, migração, caracterização e fácies orgânicas. ^{25, 26}

2.1.1 Marcadores sulfurados em amostras de petróleo

Os compostos orgânicos de enxofre (do inglês, *organic sulfur compounds* - OSC), são os mais abundantes entre os heteroátomos presentes no petróleo. O óleo cru contém em termos gerais entre 0,03 a 6% de enxofre (S) total, sendo que este teor tende a ser maior à medida que a densidade aumenta ^{27, 28}. O petróleo gerado no Brasil é considerado pobre em enxofre, os teores estão abaixo de 1% ^{4, 5}.

A composição e as quantidades de OSC variam em diferentes óleos crus ao redor do mundo, afetados pelas características de origem (marinha ou terrestre), ambiente deposicional e extensão da biodegradação, ² que são determinadas através dos chamados marcadores geoquímicos (classes dos benzotiofeno, dibenzotiofeno e benzonaftotiofeno).

Segundo Peters e Moldowan ²⁹, marcadores biológicos são complexos moleculares fósseis encontrados em baixas concentrações, provenientes de organismos vivos constituído principalmente de hidrogênio e carbono, podendo ser formados por outros elementos como o enxofre, nitrogênio e oxigênio. Simoneit ⁷ denominou os compostos sulfurados pertencentes as classes dos tiofenos alquilados e benzotiofenos como biomarcadores, sendo derivados de vários precursores lipídicos e terpenóides durante a diagênese inicial por reações com HS_x^- e H_2S .

Os principais marcadores sulfurados utilizados para a caracterização de rochas geradoras, avaliação de ambiente deposicional, fácies orgânicas e de níveis de maturação de matéria orgânica são os tiofenos ligados a anéis aromáticos. Esses compostos são denominados heterocíclicos sulfurados aromáticos policíclicos (do inglês, *polycyclic aromatic sulfur heterocycles* - PASH), que consistem nas classes de compostos benzotiofenos, dibenzotiofenos e benzonaftotiofenos (**Figura 2**) ^{2, 6, 8, 9}.

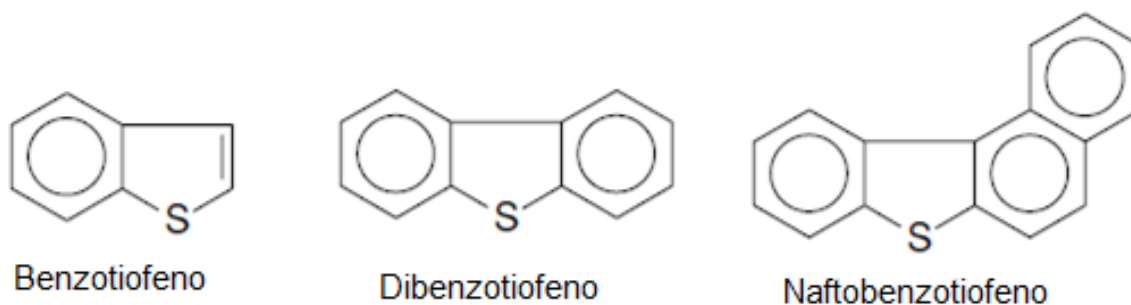


Figura 2: Estruturas das principais classes dos marcadores sulfurados presente no petróleo.

O grande número de isômeros é uma das razões pelas quais a análise e determinação de marcadores sulfurados pode ser considerada difícil ³⁰. Outros motivos incluem a baixa concentração destes compostos na maioria dos óleos crus, além das propriedades físico-químicas dos PASH que se assemelham muito às dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos PAHs (do inglês, *polycyclic aromatic heterocycles* - PAH), o que pode levar à coeluição destes compostos em detectores universais.

Os marcadores sulfurados pertencentes a classe dos dibenzotiofenos (C0 a C2) e o benzotiofeno (C0 a C2) são empregados como indicadores de maturidade no petróleo ^{11, 24, 31, 32} devido a sua alta resistência a degradação no meio deposicional. Em geral, os marcadores de maturidade são avaliados através de suas razões diagnósticas conforme **Tabela 1**, razões 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 13-24, 26. Também, na Tabela 1 é possível observar as razões diagnósticas empregadas para avaliar biodegradação do petróleo, razões 6, 7 e ambiente deposicional, razões 1, 2, 3, 4.

Tabela 1: Razões diagnósticas de compostos sulfurados citadas na literatura e sua relação com o grau de maturidade, migração, ambiente deposicional do petróleo.

Nº	RAZÃO DIAGNÓSTICA	INFORMAÇÃO	REFERÊNCIAS
1	$\Sigma BTs / \Sigma DBTs$	ambiente deposicional maturidade	6, 31, 33, 34
2	3-MBT/2-MBT	ambiente deposicional maturidade	31, 34
3	DBT/Phen	maturidade ambiente deposicional	35, 36, 37, 38, 39, 40, 41
4	4-MDBT/Phen	ambiente deposicional	42
5	4-MDBT/1-MDBT	maturidade migração	6, 9, 24, 26, 31, 32, 43, 34, 39, 40, 44, 45 46, 47, 48
6	1-MDBT-/4-MDBT	maturidade biodegradação	11, 14

7	2+3-MDBT / 4-MDBT	biodegradação.	14
8	2,4 – DMDBT/1,4-DMDBT	maturidade migração	24, 32, 43, 49
9	4,6- DMDBT /1,4 - DMDBT	maturidade migração	24, 32, 43, 50, 49
10	4,6 - / (1,4 + 1,6) -DMDBT	migração	26, 43
11	4,6-/ 3,6 DMDBT	migração	50
12	4,6-/ 2,7-DMDBT	migração	50
13	(2,6 + 3,6) - / (1,4 + 1,6) –DMDBT	maturidade migração	24, 26
14	2- + 3-MDBT / 1-MDBT	maturidade	31, 34, 48
15	1-MDBT/DBT	indicador de fácies orgânicas e maturidade	31, 33, 34, 48

16	$2+3\text{MDBT}/\text{DBT}$	indicador de fácies orgânicas e maturidade	33, 45
17	$4\text{-MDBT}/\text{DBT}$	indicador de fácies orgânicas e maturidade	33, 45
18	$\text{C1-DBT}/\text{C3-DBT}$	maturidade	41
19	$1\text{MDBT}+2\text{MDBT}+3\text{MDBT}+4\text{MDBT}/\text{DBT}$	indicador de fácies orgânicas e maturidade	45
20	$(4\text{MDBT}+2,3\text{MDBT})/\text{DBT}+2,3\text{MDBT}+1\text{MDBT}$	indicador de fácies orgânicas e maturidade	45
21	$(4\text{-MDBT}+2,3\text{MDBT})/(2,3\text{MDBT}+1\text{-MDBT})$	indicador de fácies orgânicas e maturidade	45
22	$2,4,6\text{-}/(1,4,6 + 1,4,8+3,4,6)\text{-TMDBT}$	maturidade	24
23	$2,4,6\text{-}/(1,4,6 + 1,4,8+3,4,6)\text{-TMDBT}$	maturidade	24
24	$2,4,6\text{-}/(2,4,7 + 2,4,8)\text{-TMDBT}$	indicador de fácies orgânicas e maturidade	49
25	$2,1\text{-BNT} / (2,1\text{-BNT} + 1,2\text{-BNT})$	migração	25, 26
26	$4,6\text{-DMDBT}/(4\text{-EDBT}+4\text{-MDBT})$	maturidade	33, 51

Segundo Santamaría-Orozco *et al.*³³ as razões 16 e 17 **Tabela 1**, aumentam com a maturidade e a razão 15 diminui com a maturidade. Segundo os mesmos autores, a razão 1 diminui com o aumento da maturidade, isso se deve ao fato dos benzotiofenos serem mais abundantes em baixa maturidade, enquanto os dibenzotiofenos são mais abundantes em alta maturidade. A razão diagnóstica 5 foi introduzida por Radke e colaboradores⁶ como um outro parâmetro de maturidade, com variação na faixa de 0,4% a 1,10%. Como o 1-MDBT é menos estável que o 4-MDBT, valores menores do que 1, indicam rocha imatura. Posteriormente, outros estudos empregaram essa razão com o mesmo objetivo, como pode ser verificado na **Tabela 1**. Outras razões empregadas para avaliar maturidade pertencem a subclasse dos C2-DBT, e estão indicadas em 8, 9 e 13.

As razões de marcadores sulfurados 5, 8, 9, 11, 12 e 25 são empregadas para avaliar migração do petróleo. A razão isomérica 6, por exemplo, diminui à medida que aumenta a profundidade e foi correlacionada com propriedades específicas do reservatório do petróleo, como maturidade. Esse comportamento é atribuído a estabilidade térmica do 1-MDBT ser menor que a do isômero 4-MDBT¹⁴. Wang e colaboradores⁴³ propuseram as concentrações relativas de MDBTs e DMDBTs como indicadores moleculares de migração do óleo cru através das razões 5, 8, 9. Fang *et al.*²⁶ e Li *et al.*²⁵ estimaram a distância da migração do petróleo pela distribuição dos isômeros de BNTs, a saber, razão 25. Todas essas razões diminuem com a migração do óleo cru. Mais recentemente, Gao e colaboradores⁵⁰ usaram as razões 9, 11 e 12 para indicar a direção da migração do petróleo. Para caracterizar a migração, três parâmetros, incluindo 4,6-/2,7-DMDBT (blindado / exposto), 4,6-/1,4-DMDBT (blindado/parcialmente exposto) e 4,6-/3,6-DMDBT (blindado/parcialmente expostos) foram utilizados. Os resultados indicaram que todos aumentaram com a direção da migração do óleo cru.

O fato dos marcadores apresentarem uma relação direta com os organismos dos quais tiveram origem, faz com que os mesmos possam ser utilizados como indicadores paleoambientais, ou seja, do ambiente deposicional da matéria orgânica²¹ sendo empregados compostos pertencentes as classes dos BTs e os DBTs que são usados como marcadores de ambiente deposicional. Por exemplo, Nady e Harb³⁴ indicaram através do somatório, a razão $\sum BTs / \sum DBTs$ (1), **Tabela 1**, onde valores superiores a 3 mostram que o óleo é proveniente de ambiente marinho, valores entre

1 a 3 indicam ambientes marinhos e lacustre já valores menores que 1 indicam que o óleo é proveniente de ambiente lacustre. Outra razão muito empregada é a 3, DBT/Phen, que relacionada com o pristano (Pr) e fitano (Fi) pode revelar o ambiente deposicional do óleo, razão DBT/Phen > 1 e a razão Pr/Fi < 1 indicam que o óleo é de origem marinha. Razão DBT/Phen entre 1 e 3 e a razão Pr/Fi < 1 o óleo é de origem marinha e lacustre e razão DBT/Phen < 1 e Pr/Fi < 1 o óleo é de origem lacustre. Cai *et al.*³⁵ demonstraram que a proporção entre DBT/fenantreno razão 3 da **Tabela 1** de 6,6, e de 1,7 são valores considerados elevados e valores menores que 0,9 são considerados baixos demonstrando o potencial do ambiente deposicional para a geração de óleo.

MDBTs e DMDBTs são suscetíveis a biodegradação no petróleo em reservatórios e por isso são empregados como marcadores de biodegradação aeróbica^{11, 43}. Para os MDBTs a ordem de suscetibilidade à biodegradação (do mais suscetível para o menos) é 2-MDBT + 3-MDBT > 1-MDBT > 4-MDBT⁵². A biodegradação seletiva dos metildibenzotiofenos ocorre porque os isômeros com substituintes metila na posição β (2-MDBT e 3-MDBT) são facilmente degradados^{52, 53}. Assim, o aumento das razões 6 e 7, indica aumento da biodegradação do petróleo^{21, 33, 34, 35}. Para os DMDBTs a biodegradabilidade (do mais suscetível ao menos) é 1,2-DMDBT > 1,7-DMDBT > 2,8- DMDBT > 2,8- DMDBT = 4,6-DMDBT > 2,6-DMDBT = 2,4-DMDBT. De forma geral, os MDBTs são mais suscetíveis à biodegradação do que DMDBTs. Observa-se uma sequência consistente de alteração de DBT, MDBTs e DMDBTs com aumento do nível de biodegradação nas amostras de óleo⁵².

2.1.2 Técnicas de isolamento de marcadores sulfurados em petróleo

Devido aos baixos níveis de concentração dos marcadores sulfurados e da complexidade das amostras de petróleo, etapas de isolamento e/ou fracionamento, de acordo com as características químicas dos interferentes e compostos de interesse são necessárias quando se empregam técnicas cromatográficas instrumentais convencionais, como a GC-MS ¹⁰.

Os hidrocarbonetos saturados e os aromáticos (PAHs) presentes no petróleo prejudicam a detectabilidade dos compostos sulfurados em análises cromatográficas convencionais ². Portanto, esses interferentes devem ser removidos afim de não prejudicar a correta identificação dos PASHs.

Normalmente, para os estudos de marcadores sulfurados, a literatura científica emprega o método SARA (Saturados, Aromáticos, Resinas e Asfaltenos) o qual consiste em um procedimento de cromatografia em coluna aberta, empregando sílica ou alumina como fase estacionária e eluição com solventes de polaridades crescentes a fim de obter as quatro frações ^{2, 43, 54}. A fração aromática contém os PASH e os PAHs. Entretanto, os PAH e PASH apresentam propriedades físico-químicas muito semelhantes o que dificulta a correta identificação por GC-MS, podendo levar a interpretações geoquímicas ambíguas ¹⁵.

Uma abordagem mais específica para a determinação dos marcadores sulfurados emprega o método SARA (neste caso chamado de pré-fracionamento) seguido de fracionamento da fração aromática por cromatografia de troca ligantes (do inglês, *ligand exchange chromatography* – LEC) com PdCl₂ impregnado em sílica gel. A troca de ligantes de compostos de enxofre com a fase estacionária PdCl₂ varia com a basicidade.

Tanto o emprego do método SARA de forma isolada quanto o emprego do SARA seguido de fracionamento LEC, envolvem várias etapas de separação antes da análise cromatográfica, por exemplo, por GC-MS. Ambas as metodologias apresentam desvantagens como: tempo elevado, grande quantidade de solventes orgânicos, possibilidade de ocorrer perda de componentes voláteis. Essas interferências geram dois problemas: não apenas as quantificações de PASHs serão errôneas, a menos que a influência de enxofre seja levada em consideração, mas também as quantificações de PAHs estarão incorretas ⁴⁸.

2.2 TÉCNICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE MARCADORES SULFURADOS EM PETRÓLEO

A cromatografia em fase gasosa aliada a diferentes técnicas de detecção, tais como detector de emissão atômica (do inglês, *atomic emission detector* – AED), e espectrometria de massas (do inglês, *mass spectrometry* - MS) tem sido utilizada para a determinação de marcadores sulfurados em petróleo. Na **Tabela 2** é possível visualizar as técnicas mais empregadas e as respectivas colunas cromatográficas para os marcadores avaliados.

De forma geral, a coluna com fase estacionária 5% fenil (DB-5, HP-5MS) é a mais empregadas no estudo de marcadores sulfurados em amostras de petróleo. Entretanto, alguns autores têm indicado coeluições quando essa é usada. Mossner e colaboradores ⁵⁵ demonstraram alguns exemplos de coeluições empregando duas colunas com fase estacionária distintas para separação dos isômeros 2,4,7- e 2,4,8-TMDBT em uma amostra de óleo cru utilizando o GC-MS. Os dois isômeros coeluem na fase 5% fenil (DB-5MS) enquanto na fase 50% fenil (DB-17MS) os isômeros foram separados. Foi observado também, no mesmo trabalho, a coeluição entre o 1,3,7- e 3,4,7-TMDBT na fase estacionária DB-17MS sendo possível a separação desses isômeros em coluna DB-5.

A GC-AED apresenta uma boa combinação de especificidade e sensibilidade para análise de compostos contendo heteroátomos, como os PASHs, alguns autores têm empregado esse tipo de detector para avaliação dos sulfurados. Por exemplo, Hegazi e colaboradores ⁵⁶ empregaram a GC-AED a fim de avaliar marcadores sulfurados indicadores de maturidade em amostras de óleo cru de diferentes regiões. O uso de detectores específicos como o AED possibilita a avaliação dos padrões de distribuição de OSC mesmo nos casos em que sua abundância relativa é baixa ou quando a diferença no tempo de retenção entre os compostos eluentes é pequena ³¹. Entretanto, requer o emprego de padrões analíticos para a correta identificação dos compostos de interesse.

Tabela 2: Técnicas de detecção empregando cromatografia a gás e respectivas colunas cromatográficas para a caracterização de marcadores orgânicos sulfurados em petróleo.

Técnica de Detecção	Coluna	Marcadores	Referências
GC-AED	HP-1 ^a (25 m × 0.32 mm × 0.17 μm)	C ₁ -BT; DBT; C ₁ -DBT; C ₂ -DBT	47
GC-AED	SB ^b -bifenil-30 (25 m × 0.32 mm × 0.25 μm)	C ₁ -BT; DBT; C ₁ -DBT; C ₂ -DBT; BNTs	57
GC-AED	ZB-5 ^c (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	C ₁ -BT; DBT; C ₂ -DMDBT; C ₃ -TMDBT; DBT; Phen; C ₂ -DBT; C ₃ -DBT; BNT	31, 56
GC-AED	DB-5MS ^c (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm) DB-17MS ^j (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	DBT; C ₂ -DBT; C ₃ -DBT; BNT; Phen	55
GC-MS (SIM)	DB-5 ^d (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	DBT; Phen; C ₁ -MDBT	39
GC-MS (SIM)	BP-1 ^e (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	DBT; Phen; C ₁ -MDBT	58
GC-MS (SIM)	SE-54 ^f (50 m × 0,32 mm × 0.10 μm)	C ₂ -DBT; C ₃ -DBT; BNT; Phen	59
GC-MS (SCAN)	SE-54 ^g (30 m × 0.25 mm × 0.33 μm)	DBT; Phen	60
GC-MS (SIM)	HP-5MS ^h (60 m × 0.32 mm × 0.25 μm)	C ₂ -DMBT; BNTs	26

GC-MS (SCAN)	i (30 m × 0.25 mm i.d. × ⁱ)	C ₁ -MBTs; C ₂ -MDBTs; C ₃ -TMDBTs	34
GC-MS (SIM)	DB-5 ^c (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	DBT; C ₂ -DBT; C ₃ -DBT; BNT; Phen	24, 61, 55
GC-MS (SIM)	HP-5MS ^c (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	C ₁ -MBT; C ₂ -MDBT; C ₃ -TMDBT; BNT	25
GC-MS (SCAN e SIM)	DB-5MS ^c (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	DBT; C ₁ -DBTs; C ₂ -DBTs; C ₃ -DBTs	11, 19
GC-MS (SIM)	HP-5MS ^c (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	BT; C ₁ -MBTs; C ₂ -MBTs; EMBT; C ₃ -TMBT; C ₂ -DMBT; BNT	48, 62, 63
GC-MS (SIM)	DB-5 ^c (30 m × 0.32 mm × ⁱ)	C ₁ , C ₂ e C ₃ -DBT	41
GC-MS (SIM)	DB-17MS ^j (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	DBT; C ₂ -DBT; C ₃ -DBT; BNT; Phen	55
GC-MS (SCAN)	DB-5 ^c (30 m × 320 μm × ⁱ)	C ₁ -MDBT; C ₂ -DMDBT	43
GC-MS/MS (MRM)	HP-5ms ^c (30 m × 250 μm × 0.25 μm)	C ₁ -MDBT	14
GC-MS/MS (MRM)	HP-1 ^a (60m × 0.25 mm × 0.25 μm)	BT; C ₁ -MDBT; DBT; C ₂ -DMDBT	15

^{a,e} 100% dimetil polisiloxano; ^b 30% fenil, 70% dimetil polisiloxano; ^c 5% fenil, 95% dimetil polisiloxano; ^d 5% fenil, 95% dimetil polisiloxano; ^{f,g} 5% fenil, 1 % fenil, 94% metil polisiloxano; ^h 5% fenil, 95% metil polisiloxano; ⁱ não informado; ^j 50% fenil, 50% metilpolisiloxano BT: benzotiofeno, TMBT: trimetilbenzotiofeno DBT: dibenzotiofeno; MDBT: metildibenzotiofeno; DMDBT: dimetildibenzotiofeno; TMDBT: trimetildibenzotiofeno Phen: fenantreno; BNT: bezo[b]nafto [2,1-b]tiofeno; Cx: x é o número de carbonos substituintes ligados a estrutura principal do composto.

Conforme pode ser observado na **Tabela 2**, a GC-MS no modo SIM é a técnica predominante quando se trata de marcadores sulfurados. Recentemente, a GC-MS/MS tem sido empregada ^{14, 15}, porém, ainda com poucos relatos. Devido à importância frente a determinação dos marcadores sulfurados, essas duas técnicas serão discutidas individualmente na sequência do texto.

2.2.1 Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas

O acoplamento de um cromatógrafo ao espectrômetro de massa, **Figura 3** alia as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência na separação de compostos) com a espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade) ⁶⁴. O analisador do tipo quadrupolo (qMS) é o mais empregado para a determinação de marcadores sulfurados em amostras petroquímicas.

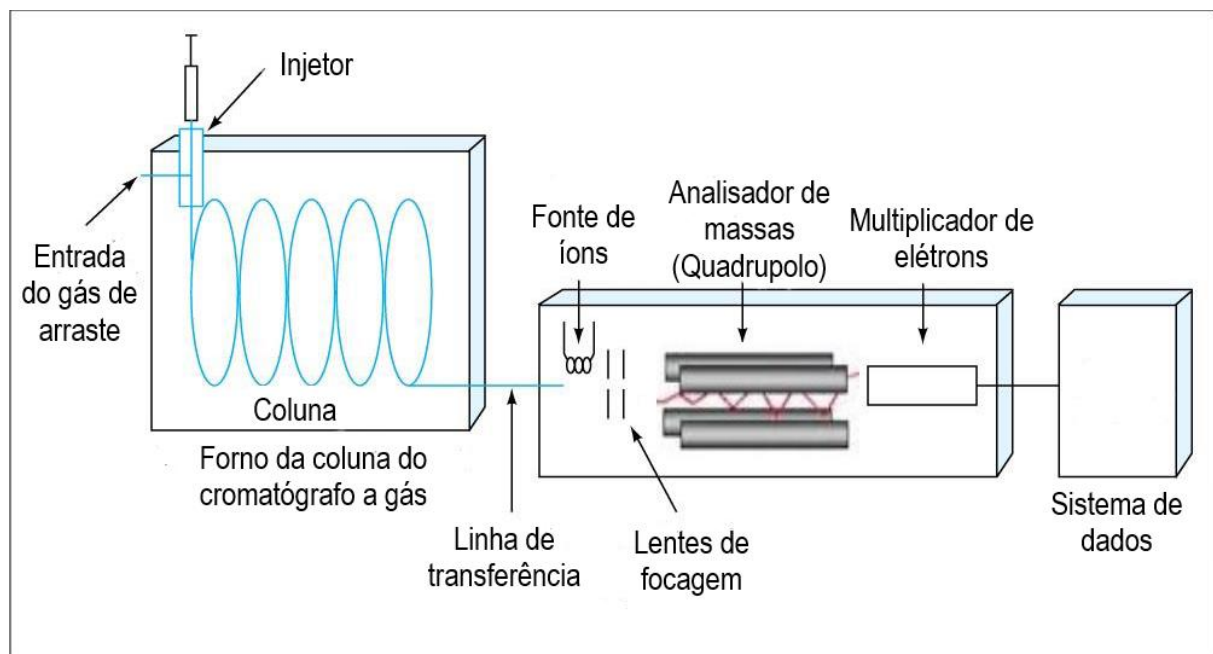


Figura 3 - Esquema de um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolar. Fonte: Adaptado de Skoog ⁶⁵.

O analisador do tipo quadrupolo apresenta 4 hastes que desempenham a função de eletrodos, onde as barras opostas se conectam eletricamente, sendo um par

conectado ao lado positivo de uma fonte variável de corrente direta e o outro par ligado ao terminal negativo. Somando-se a isso, potenciais de corrente alternada de rádio frequência variável, que estão 180° fora de fase, são aplicados a cada par das barras. Para a obtenção do espectro de massas, os íons são acelerados para o espaço entre as barras por uma diferença de potencial. Enquanto isso, as voltagens de corrente alternada e contínua nas barras se elevam simultaneamente. ^{66, 67}.

O analisador de massas do tipo quadrupolo tem a vantagem de poder trabalhar em dois modos: SCAN ou SIM. No modo SCAN escolhe-se uma determinada faixa de m/z a ser analisada, já no modo SIM a sensibilidade é aumentada devido ao monitoramento de poucas razões m/z , fazendo com que ocorra um aumento na taxa de aquisição dos dados, mas perda de informação espectral, assim é necessário o conhecimento anterior dos parâmetros através de análise SCAN ou o emprego de padrões para correta identificação do pico ⁶⁸.

Para a determinação de marcadores sulfurados, tradicionalmente o método GC-MS no modo SIM é aplicado, onde todos os íons de uma determinada razão m/z serão registrados, independentemente de o enxofre estar presente ou não. Portanto, todos os compostos sem enxofre que também produzem o íon desejado serão registrados e podem interferir na detecção seletiva desejada. Um exemplo deste tipo de problema é ilustrado na **Figura 4** ^{69, 70}.

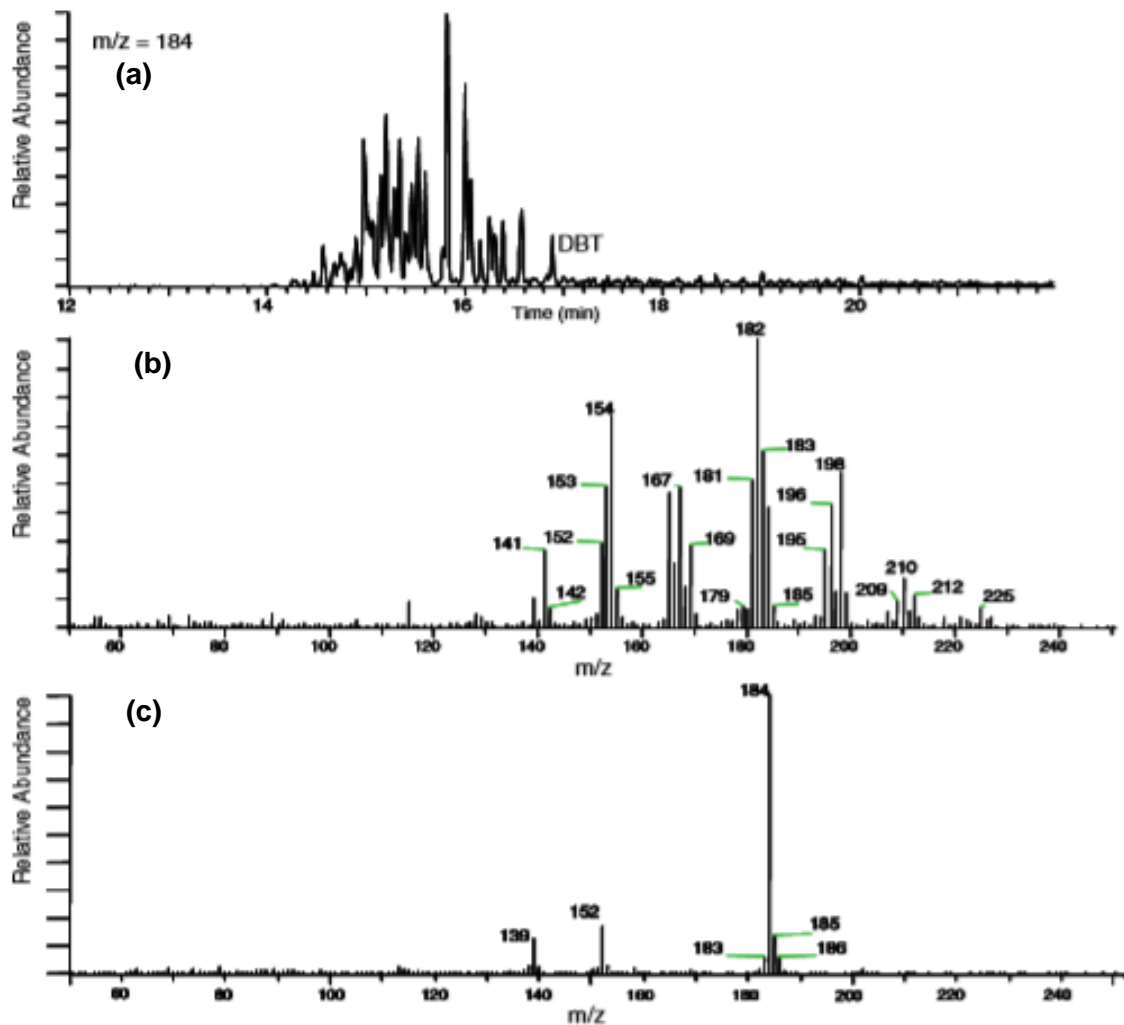


Figura 4: (a) Cromatograma GC-MS no modo íon selecionado m/z 184, correspondente ao DBT. (b) Espectro de massas obtido no tempo de retenção do DBT (c) Espectro do padrão DBT. ⁶⁹

Hegazi e colaboradores ¹¹, relataram que a GC-MS no modo SIM é limitada para análise de marcadores sulfurados em petróleo se a amostra não passar por etapa de pré-fracionamento (coluna de sílica/alumina), seguida de fracionamento (coluna com FE de PdCl_2). Coeluições entre C4-naftalenos e DBT, ambos com íon molecular 184 foram observadas na análise da amostra pré-fracionada, já na fração obtida após fracionamento foi obtido o DBT sem a interferência dos C4-naftalenos. O mesmo comportamento ocorreu para C2-DBT com C2-criseno.

Posteriormente, Yang *et al.* ⁴⁸ avaliaram amostras de petróleo antes e após o fracionamento com uma FE contendo PdCl_2 . Os autores também verificaram que o modo SIM não foi eficiente sem o fracionamento e relatam coeluições do benzotiofeno com C4-

benzeno (ambos têm a mesma massa nominal de 134) e com naftaleno (igual peso molecular). O mesmo ocorre para os homólogos maiores dos benzotiofenos em m/z 148 (C1-BT), 162 (C2-BT), 176 (C3-BT) e 190 (C4-BT) com naftalenos correspondentes. Já o DBT (m/z 184) coelui com naftaleno e os Cx-DBT (m/z 198, 212, 226 e 240) coeluem com C4-alkilnaftalenos correspondentes. O BNT (m/z 234) e seus análogos Cx-BNT (m/z, 248, 262 e 276) têm as mesmas massas nominais que os fenantrenos C4, que interferem na análise. Andersson e colaboradores ⁶⁹, indicam que a coeluição entre os pares de compostos DBT e o nafto[2,1-b]tiofeno e entre o nafto[2,1-b]tiofeno com o fenantreno pode ser resolvida com o emprego da coluna SPB-5.

Os marcadores sulfurados podem ser avaliados de três formas: qualitativa, semi-quantitativa e quantitativa. A identificação e quantificação de forma individuais em uma mistura complexa como a do petróleo requer o uso de etapas eficazes de preparação da amostras, método de separação de detecção com alta seletividade e sensibilidade ¹⁵. A análise qualitativa é analisada no modo SCAN e SIM, nesses casos, a identificação dos marcadores sulfurados ocorre através de informações obtidas na literatura associadas ao tempo de retenção dos PASHs em condições cromatográficas semelhantes ^{24, 26, 34, 71}.

A análise semi-quantitativa por GC-MS é empregada quando há disponível o padrão interno (PI). Essa análise consiste na preparação de soluções com concentrações do padrão interno adicionado a amostra de interesse. O composto utilizado como PI deverá ser similar aos compostos a serem quantificados, com tempo de retenção próximo aos demais analitos a serem determinados, não reagir com a substância a ser determinada ou outro composto presente na matriz, não estar presente na amostra e não coeluir com nenhuma outra substância que se faz presente na amostra. O método de padronização interna independe das pequenas mudanças em variáveis experimentais, como temperatura da coluna e tamanho da amostra ⁷². Como exemplos de análise usando PI para determinação de marcadores sulfurados, tem-se o estudo de Cheg e colaboradores ⁵³ usaram o antraceno *d*-10 na concentração de 0,1042 µg. µL⁻¹ na fração aromática para quantificação, que foi realizada com base nas áreas dos picos dos PASHs em relação ao PI estudo semelhante para PASHs empregando esse mesmo PI foram publicados ³⁷. Alguns autores têm empregado como PI deuterado DBT-d8 ^{25, 49, 73}.

Em outro estudo, Yang *et al.* ⁴⁸ empregaram o 2-fluordibenzotiofeno como PI adicionaram a fração contendo os PASHs 2µL do PI na determinação dos marcadores sulfurados. Uma curva de calibração foi construída com concentrações de 10, 20, 50, 200 e 1000µg L⁻¹.

Poucos trabalhos descritos na literatura, para avaliação específica de marcadores sulfurados, empregam análise quantitativa através da curva analítica^{15, 30, 48}, esse procedimento é mais empregado em estudos analíticos voltados a identificação geral de compostos sulfurados em amostras petroquímicas.

Em suma, as propriedades físico-químicas dos PAHs e PASHs são muito semelhantes, elas sempre estarão presentes juntas na amostra analisada. Qualquer análise cromatográfica precisará, portanto, mostrar poder de resolução suficiente para separar os compostos de interesse de outros constituintes da amostra, ou será necessário um detector com seletividade suficiente para os compostos contendo enxofre. Conseqüentemente, a separação dos PASHs é considerada um ponto central na análise.

A técnica por GC-MS apresenta limitações para a detecção de marcadores sulfurados se a amostra de petróleo não passar por adequado processo de fracionamento. Uma alternativa promissora para este tipo de análise é a GC-MS/MS. Chiaberge *et al.* ¹⁴, Mei *et al.* ¹⁵ e Franchina *et al.* ¹⁶ abordaram essa técnica e terá um lugar de destaque aqui, pois foi a metodologia empregada neste trabalho.

2.2.2 Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo

A GC-MS/MS é uma poderosa ferramenta para aumentar a seletividade e a exatidão analíticas ⁷⁴. Embora essa não seja uma técnica recente, sua aplicação nas análises de rotina tem sido limitada pelo alto custo da instrumentação e a necessidade de operadores especialmente treinados. O MS/MS pode promover uma eliminação de interferências de *background*, por meio disso introduzindo um aumento na razão S/N ^{15, 64} e normalmente também de sensibilidade, a qual é dependente da eficiência com a qual os íons produtos são criados em relação a sua redução a ruído. Assim, é uma técnica

analítica de fundamental relevância para análise e confirmação dos compostos alvo em níveis de traços ^{75, 76}.

O modo de operação MS/MS inclui dois passos adicionais entre a formação e a detecção dos íons, o isolamento de um íon precursor que ocorre no primeiro analisador (Q1) e em seguida, sua fragmentação em íons produtos característicos na cela de colisão (q2) que segue para o segundo analisador (Q3), para formar um espectro completo. Por isso, essa técnica é utilizada para análise de compostos alvos, onde cada composto necessita ter suas próprias condições. A confirmação da identidade de compostos, em baixos níveis de concentração e em matrizes complexas, baseado no espectro do íon produto, é grandemente melhorada pela utilização da técnica MS/MS. Este espectro é único para cada composto e não é afetado pela presença dos íons interferentes da matriz. Os interferentes são excluídos durante a etapa de isolamento do íon e não afetam o espectro produto ou a sensibilidade da análise.

O instrumento triplo quadrupolo (QqQ) é formado por três quadrupolos em série (**Figura 5**). No primeiro quadrupolo (Q1) é selecionado o íon precursor, (íon característico do composto de interesse), o segundo quadrupolo (q2) atua como célula de colisão fragmentando o íon precursor separado em (Q1) e não como separador de íons da mesma razão m/z. A fragmentação em q2 geralmente ocorre através da dissociação induzida por colisão do gás inerte (do inglês – *collision-induced dissociation* – CID). No q2, o íon de interesse é submetido a um potencial elétrico, através da CID, é acelerado e segue para a região de alto vácuo. Neste quadrupolo, ocorre as diversas colisões entre o gás inerte (normalmente argônio, hélio ou nitrogênio) e o íon precursor, o que acarreta na sua fragmentação gerada por um aumento da energia potencial, fornecendo os íons produtos que são então detectados no terceiro quadrupolo (Q3) ⁶⁶.

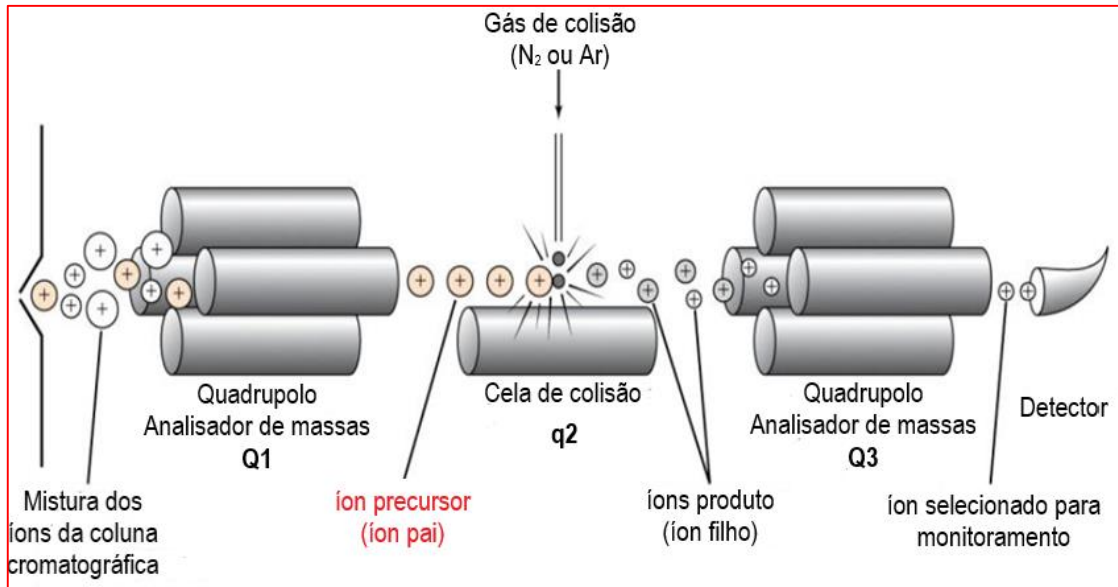


Figura 5: Esquema da composição de um analisador do tipo triplo quadrupolo ⁷⁷.

Na aquisição de dados de um espectro de massas em MS/MS os analisadores de massas podem operar em diferentes modos (maneira como o espectrômetro de massas pode operar para aquisição dos dados), os principais modos são descritos a seguir.

a) Modo de varredura completa (SCAN): é o modo normalmente empregado em GC-MS, conforme já relatado no item 2.2.1. No MS/MS, seleciona-se apenas um dos quadrupolos, geralmente o (Q1), realizando assim a varredura completa da amostra em uma faixa selecionada de razões m/z .

b) Modo monitoramento seletivo de íons (SIM): também é o modo normalmente empregado em GC-MS (item 2.2.1). No MS/MS, o q2 e o Q3 servem somente para transmitir os íons filtrados no primeiro quadrupolo ⁷⁸.

c) Modo varredura íons produzidos (do inglês, *product ion scan* – PIS): consiste na seleção de um íon precursor no primeiro analisador (Q1), que opera no modo SIM. O íon precursor escolhido no (Q1) é então direcionado para a célula de colisão (q2) onde ocorre a fragmentação e são gerados os íons produto. Os íons produto são então direcionados ao segundo analisador (Q3) que opera no modo SCAN, realizando a

varredura de massa (m/z) dos íons produzidos em consequência da fragmentação ocorrida em q_2 ⁷⁸. Uma representação esquemática desse modo de operação pode ser vista na **Figura 6**. Esse modo geralmente é empregado quando não se conhece os íons produtos (não há dados já relatados na literatura para o composto de interesse). Após a aplicação do modo PIS, avalia-se os íons gerados no (Q3) e então realiza-se uma nova análise, com os íons gerados, agora no modo MRM, descrito na sequência.

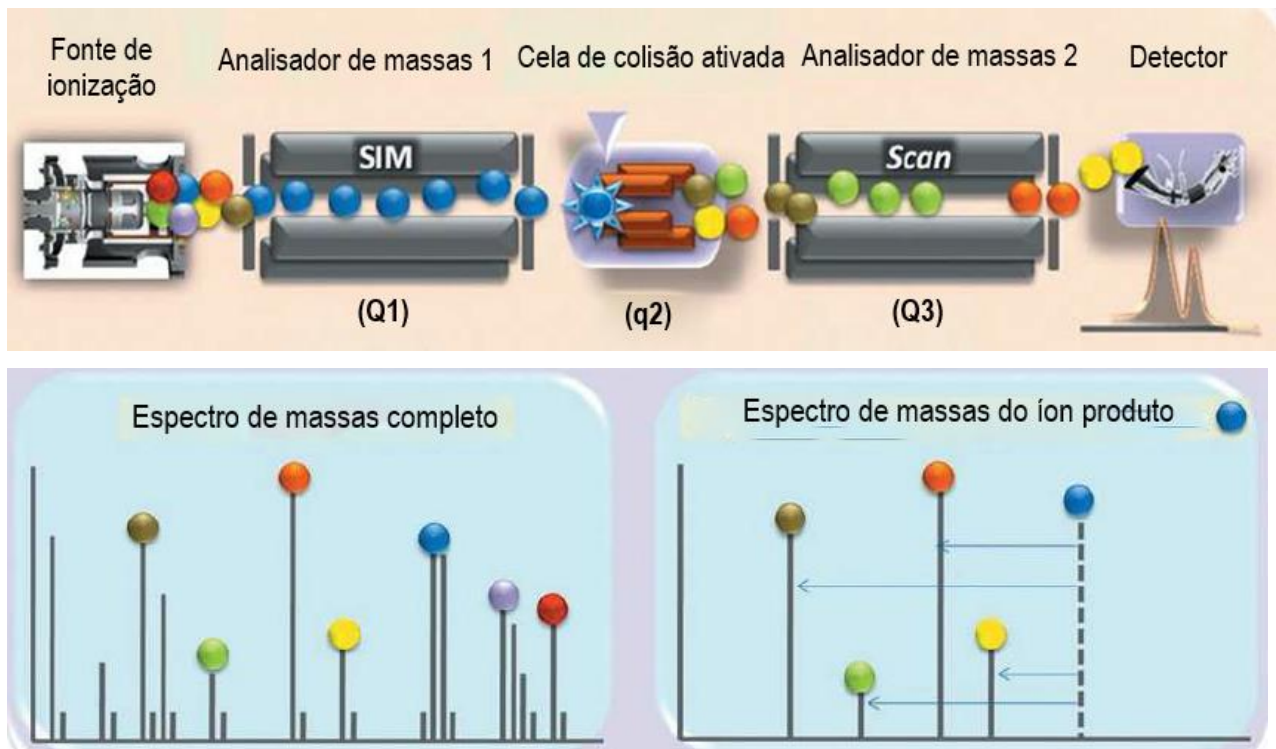


Figura 6: Esquema representativo do modo de operação de varredura íons produzidos. Fonte: Adaptado de⁷⁸.

d) Monitoramento de reações múltipla (do inglês, *Monitoring Reaction Multiple* - MRM) neste modo, ambos os analisadores de massas (Q1) e (Q3) operam no modo SIM. No (Q1), se isola o íon precursor, que é fragmentado com energia específica no (q_2) e segue para o (Q3), que faz a leitura dos íons produtos específicos (previamente selecionados pelo modo PIS ou selecionados na literatura), aumentando assim a especificidade da análise^{66, 74, 75, 78}. A representação esquemática do modo MRM pode ser vista na **Figura 7**.

Ambos os íons selecionados em (Q1) e (Q3), devem ser estáveis e geralmente abundantes no espectro de massa do analito. O uso do PIS, como etapa anterior ao MRM, cancela quase completamente a probabilidade de coincidências de sinais do analito com possíveis íons interferentes e, além disso, aumenta a relação S/N. Tipicamente, o registro de duas transições independentes, juntamente com o tempo de retenção (t_R), permite a confirmação inequívoca da ocorrência de um analito-alvo em uma mistura complexa. ⁷⁶.

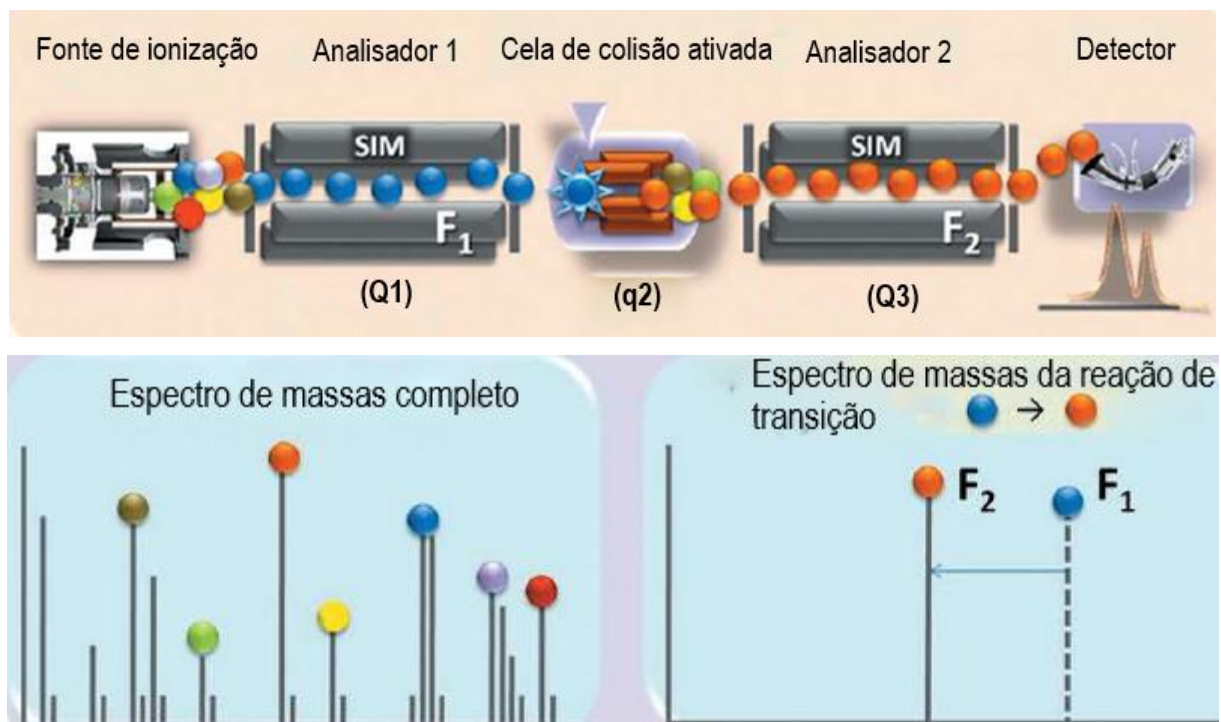


Figura 7: Esquema representativo do modo de operação de monitoramento de reações múltiplas. Fonte: Adaptado de ⁷⁸.

O uso do triplo quadrupolo operando no modo MRM é de particular importância para a análise de compostos alvo presentes em nível de traço em matrizes complexas, com muitas interferências. Por exemplo, é muito empregada para análise de pesticidas em alimentos ⁷⁹⁻⁸³, amostras ambientais ⁸⁴⁻⁸⁶ e na determinação de HPAs presentes em diferentes tipos de amostras como o solo ^{87, 88}, petróleo ⁸⁹, mexilhão ⁹⁰, ar ⁹¹, água ⁹²⁻⁹⁴ e cereais ⁹⁵. Outra aplicação importante é a análise de biomarcadores saturados e aromáticos em petróleo ⁹⁶⁻⁹⁹ após etapas do pré-fracionamento da amostra (ex: SARA).

No que se refere a determinação de compostos sulfurados em amostras de petróleo por GC-MS/MS, há ainda poucos trabalhos^{12, 14, 15, 16, 100}.

Especificamente para marcadores sulfurados em óleos crus, há dois estudos, o primeiro foi desenvolvido por Chiaberge e colaboradores¹⁴ eles desenvolveram um método para a determinação dos isômeros de MDBTs (1-MDBT, 2-MDBT, 3-MDBT e 4-MDBT) em amostras de óleo cru, sem etapa preliminar de fracionamento, apenas com a diluição em solvente orgânico. Contudo, não foi possível a identificação dos isômeros-2-MDBT e 3-MDBT já que não houve uma separação cromatográfica completa desses isômeros, por isso, eles não foram quantificados. Os autores realizaram a análise quantitativa através de curva analítica (5, 10, 25, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$), empregando apenas o 4-MDBT, justificando o uso pela semelhança dos espectros de massas para os quatro compostos a serem determinados. O método foi aplicado a 16 amostras de óleo bruto e a faixa de concentração ficou entre 1.5 e 224.5 mg L^{-1} . A razão isomérica 1-MDBT/4-MDBT foi utilizada para avaliação de maturidade mostrando que a quantificação dos MDBTs em amostras de petróleo bruto apresenta relevância na investigação geoquímica.

O segundo estudo, mais recente, foi desenvolvido por Mei *et al.*¹⁵ para a determinação simultânea de biomarcadores saturados, aromáticos e de marcadores sulfurados (classe dos tiofenos, benzotiofenos e dibenzotiofenos) em óleo bruto também sem etapa de fracionamento prévio. Um total de 33 marcadores sulfurados foram identificados pela comparação dos tempos de retenção dos picos obtidos nas amostras com resultados de GC-MS da literatura. A quantificação de cada OSC foi obtida através da curva de calibração empregando o padrão DBT diluído em diversas concentrações que não foram informadas pelos autores.

Para a escolha de cada transição MRM, o íon molecular foi selecionado como o íon precursor enquanto o fragmento do íon com a resposta mais elevada foi selecionado como íon produto. As energias de colisão foram otimizadas para cada composto pela observação das áreas dos picos obtidos no cromatograma. A faixa de concentração para os compostos quantificados variou de 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o composto 2-etil- 5metil-tiofeno a 269 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o 4-MDBT¹⁵.

Franchina e colaboradores¹⁶ também empregaram a MS/MS para quantificar tiofenos (C1 a C4), benzotiofenos (C1-C5), dibenzotiofenos (C1-C4) e benzonaftotiofeno

(C1-C2) em fração pesada de petróleo empregando GC×GC. O MS/MS foi utilizado para obtenção dos dados de MRM. Os autores realizaram análise quantitativa através de curva de calibração externa usando 16 padrões de PASH.

Há ainda, relatos na literatura de determinação de sulfurados em conjunto com outros analitos em diferentes matrizes por GC-MS/MS. Por exemplo, Park *et al.*¹⁰¹ determinaram uma série de HPAs e também, DBTs e BNTs em amostras de água do mar contaminada com petróleo. Mei e colaboradores¹⁰⁰ determinaram diversos biomarcadores, entre eles o DBT em amostras de fluido de petróleo a fim de identificar sua origem. Sørensen e colaboradores¹², desenvolveram um método para determinação de HPAs e C1-C4-BT e C1-C4-DBT em óleo bruto. A análise quantitativa foi realizada por GC-MS/MS modo de operação MRM, a faixa de concentração foi de 0,7 a 7,0 µg L⁻¹

Apesar da GC-MS/MS ter sido bastante utilizada na última década em vários campos como alimentos, ambiental e na geoquímica orgânica¹⁰² existe ainda um número reduzido de trabalhos quando comparado a GC-MS. As vantagens da técnica, como especificidade, sensibilidade e possibilidade de injeção de amostras sem etapa prévia indicam que ainda há muito a ser explorado na identificação de compostos alvo em matrizes complexas. Para marcadores sulfurados, apesar dos trabalhos publicados, não há ainda, por exemplo, um estudo analítico detalhado comparando o modo SIM (muito usado) com o modo MRM nem um estudo individual de compostos alvo, muitos avaliam por sub-classe (ex: C1-DBT, C3-BT, etc).

3 EXPERIMENTAL

Todo o procedimento experimental do presente trabalho foi desenvolvido usando a infraestrutura do Laboratório LEPETRO - Centro de Excelência em Geoquímica, localizado no Instituto de Geociências (IGEO) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

3.1 REAGENTES E DEMAIS MATERIAIS

As principais vidrarias utilizadas para o preparo dos padrões e amostras foram béquer com capacidade de 25 e 100 mL, balões volumétricos de 10 mL, vials de 1,5 mL (Agilent Technologies, USA), para medir os volumes empregou-se micropipeta com capacidade de 2-20, 10-100 e 100-1000 μ L (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha).

Os solventes empregados foram diclorometano (DCM) (Merck, Darmstadt, Alemanha) e o isooctano (Merck, Darmstadt, Alemanha), ambos graus P.A.

Os padrões de compostos sulfurados foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e importados da Chiron (Trondheim, Noruega) e estão descritos na **Tabela 3**.

A coluna capilar utilizada para as análises cromatográficas foi uma DB5 (5% fenil 95% dimetilpolissiloxano) de 30 m x 0,25 mm i.d x 0,25 μ m de espessura de filme (Agilent, EUA).

3.2 EQUIPAMENTOS

A pesagem das amostras do petróleo foi realizada em balança analítica de precisão modelo AUY220 com capacidade para pesar de 10 mg a 220 g com resolução de quatro casas decimais (*range* 0,0001 g) (Shimadzu, Kioto, Japão). Para a determinação de S_{total} utilizou-se o analisador elementar LECO 628S (LECO Corporation,

St. Josep, MI, EUA). As análises cromatográficas ocorreram em um cromatógrafo a gás modelo 7890 acoplado a um espectrômetro de massa do tipo triplo quadrupolo modelo 7000B (Agilent, Santa Clara, CA, EUA), com amostrador automático 7693A (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). Foram utilizados como gás de arraste o hélio, pureza 99,999 % e na cela de colisão foi nitrogênio, pureza 99,9995% (White Martins, Rio de Janeiro, Brasil).

3.3 AMOSTRAS

As amostras de petróleo empregadas neste estudo são provenientes da Bacia Potiguar, localizada ao longo da costa do estado do Rio Grande do Norte e extremo-leste do estado do Ceará na região nordeste do Brasil ¹⁰³.

Um total de 8 amostras denominadas de P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7 e P8 foram fornecidas pelo Núcleo de Processamento Primário e Reuso de Água Produzida e Resíduo (NUPPRAR) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e representam diferentes pontos da bacia, a localização, profundidade de coleta e características específicas, não foram informadas.

3.4 ANÁLISE DE ENXOFRE TOTAL

As análises de S_{total} foram realizadas afim de determinar a presença e o teor de S nas oito amostras em estudo e certificar-se de que seria possível a detecção por GC.

Inicialmente, as amostras foram pesadas, cerca de 0,5 g, em barca porosa e coberta com reagente específico. Após a preparação, as amostras foram inseridas no analisador elementar LECO, a uma temperatura de 1350°C até a combustão total, ou seja, a amostra passa por um processo de oxirredução, o enxofre origina SO_2 em fluxo de oxigênio (O_2) isento de impurezas. O equipamento é calibrado de maneira que pelas quantidades de SO_2 detectadas forneça as porcentagens enxofre total (S). O limite de

detecção do método para o enxofre é de 0,05% e o resultado expresso em percentagem (%)¹⁰⁴.

3.5 PREPARO DOS PADRÕES

Os quatorze padrões sulfurados utilizados neste trabalho foram seleccionados após levantamento bibliográfico com base no seu emprego como marcadores em estudos geoquímicos. Além desses, o fenantreno foi também escolhido pois é empregado em conjunto com os sulfurados para cálculo de razões diagnósticas. O padrão deuterado dibenzotiofeno-*d*8 foi utilizado como padrão interno (**Tabela 3**).

Tabela 3: Especificação dos padrões de compostos orgânicos sulfurados aromáticos empregados no presente estudo.

Padrão	Pureza (%)	Conc. $\mu\text{g.mL}^{-1}$ *	CAS	Estado físico	Empresa
benzotiofeno	99,9	-	95-15-8	sólido	Sigma Aldrich
3-metilbenzotiofeno	99,9	1000	1455-18-1	líquido	Chiron
2,3-dimetilbenzotiofeno	99,6	1000	4923-91-5	líquido	Chiron
2,3,4-trimetilbenzotiofeno	99,8	150	91144-23-9	líquido	Chiron
dibenzotiofeno- <i>d</i> 8	> 99,5**	1000	33262-29-2	líquido	Chiron
dibenzotiofeno	99,5	-	132-65-0	sólido	Sigma Aldrich
4-metildibenzotiofeno	95,9	500	7372-88-5	líquido	Chiron
1-metildibenzotiofeno	99,8	10	31317-07-4	líquido	Chiron
4,6-dimetildibenzotiofeno	> 99,8**	500	1207-12-1	líquido	Chiron
2,4-dimetildibenzotiofeno	99,9	500	31317-18-7	líquido	Chiron
1,4-dimetildibenzotiofeno	> 99,5**	500	21339-65-1	líquido	Chiron
2,4,7-trimetildibenzotiofeno	98,1	500	21698-03-8	líquido	Chiron
4,6-dietildibenzotiofeno	97,8	500	13234-91-4	líquido	Chiron
fenantreno	98,0	-	85-01-8	sólido	Sigma Aldrich
benzo[<i>b</i>]nafto[1,2- <i>d</i>]tiofeno	99,8	200	205-43-6	líquido	Chiron

* concentração. ** referente a pureza do solvente utilizado.

Inicialmente foram preparadas soluções estoque com concentrações de 100 mg L⁻¹ para o BT, 3-MBT, 2,3-DMDBT, DBT, DBT-d8, 4-MDBT, 2,4-DMDBT, 2,4,7-TMDBT, 4,6-DEDBT, 1,4-DMDBT, 4,6-DMDBT, Phen e de 150 mg L⁻¹ para 2,3,4-TMBT e de 200 mg L⁻¹ para BNT. As soluções padrões foram obtidas da *Chiron* em ampolas, diluídas em solvente isooctano e DCM, em diferentes concentrações conforme demonstrado na **Tabela 3**, justificando a preparação da solução estoque em concentrações diferentes. A solução estoque foi preparada em DCM ou isooctano, ou seja, a depender do meio em que o padrão estava diluído.

Um mix contendo os quinze padrões com concentração 3 mg L⁻¹ em DCM foi preparado e na sequência, diluído para 1 mg L⁻¹. Essa foi a solução de trabalho empregada para verificar o tempo de retenção e a separação cromatográfica de cada composto no GC-MS/MS (SCAN). Para as análises no modo SIM e MRM a concentração do mix foi diluída para 0,25 mg L⁻¹.

Para a construção da curva de calibração foram preparadas soluções com concentrações de 0,002 a 1,5 mg L⁻¹ a partir das soluções estoque sempre avolumada para o vial de 1,5 mL com DCM.

Todas as soluções contidas nos vials foram vedadas, identificadas e recobertas com papel alumínio e armazenadas em refrigerador.

3.5.1 Preparo das amostras

As oito amostras de petróleo empregadas tanto para a avaliação qualitativa quanto para a análise quantitativa dos OSC não passaram por processo de fracionamento, elas foram diluídas em diclorometano (DCM) em concentração de 0,02 mg.µL⁻¹ em vial com capacidade de 1,5 mL e encaminhadas para análise cromatográfica no modo SIM e MRM.

3.6 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS

A determinação dos marcadores sulfurados presentes nas amostras de petróleo, foram realizadas por GC-MS/MS no modo SCAN, SIM e MRM. Enfoque especial para o modo MRM que foi utilizada para quantificação dos OSC por apresentar uma maior sensibilidade e especificidade quando comparado ao modo SCAN e SIM. O modo MRM possibilita a eliminação de interferências espectrais, minimiza os problemas de coeluição de compostos e diminui a possibilidade de identificação errônea.

Na sequência são escritos os parâmetros do sistema cromatográfico GC-MS/MS necessários para a análise dos OSC deste trabalho.

3.6.1 Condições cromatográficas para o sistema GC-MS/MS

A escolha das condições cromatográficas foi realizada empregando o mix de padrões sulfurados em uma concentração de $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ e baseou-se nos trabalhos de Franchina *et al.* ¹⁶ e Mei *et al.* ¹⁵. Ajustes na programação de temperatura do forno foram realizadas a fim de obter a melhor separação dos analitos, no menor tempo possível. As condições otimizadas foram: vazão do gás de arraste (Hélio) de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura do injetor de 280°C , volume de injeção $1 \mu\text{L}$ no modo *splitless*, a programação de temperatura do forno iniciou em 80°C , onde permaneceu por 2 minutos e a taxa de aquecimento empregada foi de 3°C min^{-1} até 300°C permanecendo o forno, nesta temperatura máxima por 20 minutos. O tempo total da análise cromatográfica foi de 56,7 minutos.

3.6.2 Condições cromatográficas para o sistema de detecção

O sistema MS/MS foi otimizado no modo SCAN, SIM e MRM empregando padrões analíticos, conforme segue.

a) Análises no modo de varredura total

As análises no modo SCAN foram necessárias para a identificação correta dos tempos de retenção e dos íons pertencentes a cada OSC. Realizou-se a injeção de 1 μL de uma solução padrão de concentração 1 mg L^{-1} de cada analito individual. Um mix contendo todos os marcadores de interesse, também na concentração de 1 mg L^{-1} , foi injetado a fim de verificar a separação cromatográfica. A faixa de varredura de massas foi de 45 a 350 u.m.a. A temperatura da linha de transferência e da fonte de íons foram 300°C, no modo de ionização impacto de elétrons a 70 eV.

Para esse modo de análise, o Q1 foi empregado para a varredura completa da faixa de massas selecionadas (45-350 u.m.a) e os quadropolos q2 e Q3 operaram no modo de transmissão dos íons.

b) Análise no modo Monitoramento Seletivo de Íons

As análises no modo SIM foram realizadas com o objetivo de obter um parâmetro de comparação com o modo MRM, já que normalmente a determinação de marcadores sulfurados emprega essa técnica. A comparação entre o modo SIM e o modo MRM permite avaliar se o modo SIM realmente foi suficiente em termos de sensibilidade e eliminação de interferentes (coeluições).

As condições de análise SIM, empregando o Q1, foram baseadas nos trabalhos de Chiaberge *et al.*¹⁴ e Mei *et al.*¹⁵ e nos espectros de massas obtidos modo SCAN, sendo escolhido dois íons específicos para cada analito: um íon de quantificação e o outro de confirmação do composto (**Tabela 4**), os compostos foram identificados pela

comparação dos tempos de retenção dos padrões eluídos usando o mix de padrões de marcadores (0,25 mg L⁻¹).

Tabela 4: Parâmetros experimentais selecionados para análise dos marcadores sulfurados no modo seletivo de íons (SIM) por GC-MS.

Composto	Abreviação	Íon principal (m/z)	Íon secundário (m/z)
benzotiofeno	BT	134	90
3-metilbenzotiofeno	3-MBT	147	115
2,3-metilbenzotiofeno	2,3-DMBT	162	147
2,3,4-trimetilbenzotiofeno	2,3,4-TMBT	176	161
dibenzotiofeno	DBT	184	158
fenantreno	Phen	178	152
4-metildibenzotiofeno	4-MDBT	198	165
1-metildibenzotiofeno	1-MDBT	198	165
4,6-dimetildibenzotiofeno	4,6-DMDBT	212	197
2,4-dimetildibenzotiofeno	2,4-DMDBT	212	197
1,4-dimetildibenzotiofeno	1,4-DMDBT	212	197
2,4,7-trimetildibenzotiofeno	2,4,7-TMDBT	226	211
4,6-dietildibenzotiofeno	4,6-DEDBT	240	225
benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno	BNT	234	202

c) Análise no modo Monitoramento de Reações Múltiplas

Para as análises no modo MRM, empregou-se as transições otimizadas em trabalhos descritos na literatura Franchina *et al.*¹⁶, Sørensen *et al.*¹² e Mei *et al.*¹⁵, conforme descrito na **Tabela 5**. Diferentes energias de colisão foram testadas: 10, 20, 30, 40 e 50 eV. Os testes de energia de colisão serviram para verificar qual entre as

transições selecionadas apresentaria a maior intensidade de sinal para o pico cromatográfico.

Para a análise no modo MRM, os analisadores de massas Q1 e Q3 operaram no modo SIM, enquanto no q2 as diferentes energias de colisão foram avaliadas. A fim de fragmentar o íon precursor selecionado no Q1.

Tabela 5: Parâmetros experimentais de transições selecionadas para análise dos marcadores sulfurados no modo Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM).

Composto	Abreviação	Transições	Referência
		134 → 90	15, 16
Benzotiofeno	BT	134 → 108	16
		133 → 89	16
		147 → 45	16
3-Metilbenzotiofeno	3-MBT	147 → 115	16
		147 → 77	16
		162 → 128	16
2,3-Dimetilbenzotiofeno	2,3-DMBT	162 → 147	12,16
		147 → 77	16
		176 → 161	12,16
2,3,4-Trimetilbenzotiofeno	2,3,4-TMBT	176 → 128	16
		176 → 115	16
		184 → 152	15, 16
Dibenzotiofeno	DBT	183 → 139	16
		184 → 158	16
		178 → 152	15
Fenantreno	Phen	178 → 139	NIST
		178 → 177	NIST

		198 → 166	16
4-Metildibenzotiofeno	4-MDBT	197 → 171	16
		198 → 154	16
		198 → 166	16
1-Metildibenzotiofeno	1-MDBT	197 → 171	16
		198 → 154	16
		212 → 197	12,16
4,6-Dimetildibenzotiofeno	4,6-DMDBT	211 → 165	16
		212 → 178	16
		212 → 197	12,16
2,4-Dimetildibenzotiofeno	2,4-DMDBT	211 → 165	16
		212 → 178	16
		212 → 197	16
1,4-Dimetildibenzotiofeno	1,4-DMDBT	211 → 165	16
		212 → 178	16
		226 → 211	12,16
2,4,7-Trimetildibenzotiofeno	2,4,7-TMDBT	211 → 178	16
		211 → 152	16
		240 → 225	16
4,6-Dietildibenzotiofeno	4,6-DEDBT	240 → 210	12
		225 → 210	NIST
		234 → 202	16
Benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno	BNT	234 → 189	16
		234 → 208	16

Após a otimização das energias de colisão, a transição de maior intensidade foi empregada para a quantificação e a segunda transição mais intensa para qualificação/confirmação.

Por fim, montou-se o método de análise, com os tempos de retenção, as transições de cada analito e a divisão da análise em janelas, e injetou-se 1 µL do mix de padrões na concentração de 0,25 mg L⁻¹.

3.6.3 Estudo comparativo GC-MS/MS modo monitoramento seletivo de íons e monitoramento de reações múltiplas

Um estudo comparativo foi realizado com o objetivo de testar a eficácia do método MRM frente ao modo SIM, na quantificação simultânea dos marcadores sulfurados em amostras de petróleo sem etapa prévia de fracionamento. Para tal finalidade, foi selecionada a amostra P1 pois a mesma apresentou maior teor de enxofre total **item 3.4**.

O procedimento adotado para o estudo comparativo consistiu na avaliação individual dos compostos considerando-se a intensidade do sinal de ambos os métodos e a seletividade.

3.7 ANÁLISE QUANTITATIVA

Após definir a melhor condição cromatográfica e avaliar comparativamente o modo SIM e MRM. Realizou-se a análise quantitativa pelo modo MRM. Os seguintes parâmetros foram avaliados: linearidade, precisão, limite de detecção e limite de quantificação.

3.7.1 Linearidade

A linearidade do método foi verificada através de injeções de solução padrão para obtenção da curva de calibração⁷². A curva foi construída através de injeções de soluções padrão preparadas em DCM, em triplicata, na faixa de 0,02 a 2,0 mg L⁻¹, com no mínimo cinco pontos contendo o padrão interno DBT-d8 na concentração de 0,1 mg L⁻¹. As injeções foram realizadas em ordem crescente de concentração.

Após as injeções, os dados de regressão linear foram obtidos com auxílio do programa Excel e foram calculadas a média das áreas, o desvio padrão relativo (% RSD), o coeficiente de determinação (R²) e a faixa de linearidade, através da regressão linear, para cada composto analisado por GC-MS/MS.

3.7.2 Precisão

A precisão do método MRM foi avaliada pela reprodutibilidade expressa em termos de desvio padrão relativo (RSD), de acordo com a equação 1:

$$\text{RSD (\%)} = \frac{s}{x_m} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

S = estimativa do desvio padrão absoluto;

$$S = \{\sum (X_i - X_m)^2 / N-1\}^{1/2};$$

X_i = valores individuais;

X_m = média das medidas em replicatas;

N = números de medidas;

3.7.3 Limite de detecção

O limite de detecção (do inglês, *Limit of detection* - LOD) reflete a menor quantidade de um analito que fornece um sinal que pode ser diferenciado do ruído. Alta sensibilidade leva a baixo limite de detecção ¹⁰⁵.

Para a determinação do LOD, foram considerados os parâmetros relativos a cada curva analítica construída, utilizando a seguinte relação matemática ⁷².

$$\text{LOD} = 3 \times \frac{s}{S}$$

Onde:

s = relação entre a estimativa do desvio padrão da resposta

S = coeficiente angular (inclinação da curva analítica)

3.7.4 Limite de quantificação

O limite de quantificação (do inglês, *Limit of quantification* – LOQ) é definido como menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob condições experimentais estabelecidas ¹⁰⁵.

Para a determinação do LOQ foram considerados os parâmetros relativos a cada curva analítica construída, utilizando a seguinte relação matemática ⁷².

$$\text{LoQ} = 10 \times \frac{s}{S}$$

Onde:

s = relação entre a estimativa do desvio padrão da resposta

S = coeficiente angular (inclinação da curva analítica)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE DO TEOR DE ENXOFRE TOTAL

Tendo como principal objetivo certificar a possibilidade da detecção por GC dos marcadores sulfurados, foi realizada a análise do teor de S_{Total} presente nas oito amostras de óleo cru em estudo, Bacia Potiguar. Na **Tabela 6** encontra-se os resultados obtidos.

Tabela 6: Resultado da análise de enxofre total para as oito amostras de óleo cru em estudo.

Amostra	S_{Total} (%)
P1	0,18
P2	0,14
P3	< 0,05
P4	< 0,05
P5	< 0,05
P6	< 0,05
P7	< 0,05
P8	0,13

Limite de detecção do método de 0,05%

Conforme dados apresentados na **Tabela 6** as concentrações de S_{Total} variaram de <0,05% a 0,18%. O limite de detecção da técnica de 0,05%, impediu a determinação exata do teor de S nas amostras P3, P4, P5, P6 e P7.

Há outras técnicas analíticas para determinar o teor de S_{Total} em amostras petroquímicas em nível de traço (sub ppm) como a microcoulometria oxidativa ¹⁰⁶ a fluorescência de ultravioleta ^{106, 107} e a colorimetria radiométrica ¹⁰⁶. Ainda, a espectroscopia de fluorescência de raios X ¹⁰⁶ e infravermelho não dispersivo ¹⁰⁶ são indicadas para a faixa média de ppm. Qualquer uma dessas metodologias poderia ser

empregada para determinar a concentração exata de S_{Total} nas amostras P3, P4, P5, P6 e P7, porém, essas metodologias não estavam disponíveis para uso, o que não impediu uma avaliação mais geral dos oito pontos.

Teores de S_{Total} podem ser empregados para classificar a qualidade de petróleos. Segundo Antunes ¹⁰⁸ e Alkhalili et al. ¹⁰⁹, baixas concentrações de enxofre (menores que 0,5% m/m) caracterizam um petróleo doce (*sweet petroleum*) enquanto valores altos de S (acima de 0,5% m/m) indicam petróleo ácido (*sour petroleum*). Todas as amostras avaliadas (**Tabela 6**) podem ser classificadas como oriundas de petróleo doce. Essa classificação é importante para o refino pois petróleos ácidos precisam de recursos extras de tratamento para retirar o enxofre, são mais poluentes e agregam maior custo para a produção. Apesar do presente trabalho ter como objetivo avaliar a qualidade do petróleo, a informação serve como uma avaliação do ponto de vista da exploração e extração.

Do ponto de vista geoquímico, os valores de S_{total} podem ser empregados juntamente com outros parâmetros para avaliar o ambiente deposicional ^{21, 107, 110}. Segundo Peters *et al.* ²¹, de forma geral, baixos teores de enxofre são característicos de petróleos gerados a partir de matéria orgânica lacustre e valores maiores de enxofre são típicos de petróleos gerados a partir de matéria orgânica marinha. Em estudo realizado por Alves e colaboradores ¹¹¹ com o mesmo conjunto de amostras de petróleo a fim de correlacioná-las com suas possíveis rochas geradoras, os autores verificaram através de parâmetros, como biomarcadores saturados, correlação entre as razões dos metais $V/(V+Ni)$ e de ferramentas estatísticas, que o petróleo das amostras P1, P2, P5, P8 foi gerado por matéria orgânica marinha, e o das P3, P4, P6 e P7 teve sua origem a partir de matéria orgânica lacustre.

No presente trabalho, os valores obtidos para S_{Total} (**Tabela 6**) também caracterizam o petróleo das amostras P1, P2 e P8 como gerado por matéria orgânica marinha (valores maiores de teor de enxofre) e o das demais amostras como tendo origem lacustre (valores inferiores de teor de enxofre). A diferença foi o ponto P5, que pelo teor de S_{total} , teve origem marinha segundo Alves e colaboradores ¹¹¹.

4.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO GC-MS/MS

4.2.1 Modo de varredura total e Monitoramento Seletivo de Íons

A otimização do método GC-MS/MS foi realizada inicialmente no modo SCAN e posteriormente no modo SIM. As soluções foram preparadas como descrito no item 3.5 na concentração de 1 mg L^{-1} para o modo SCAN (**Figura 8a**) e $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ para o modo SIM (**Figura 8b**). A diferença de concentrações é porque o modo SCAN realiza a varredura na faixa de massa de interesse e por consequência, há menor sensibilidade de detecção quando comparado ao SIM que faz o monitoramento apenas de íons característicos selecionados pelo operador ⁶⁴.

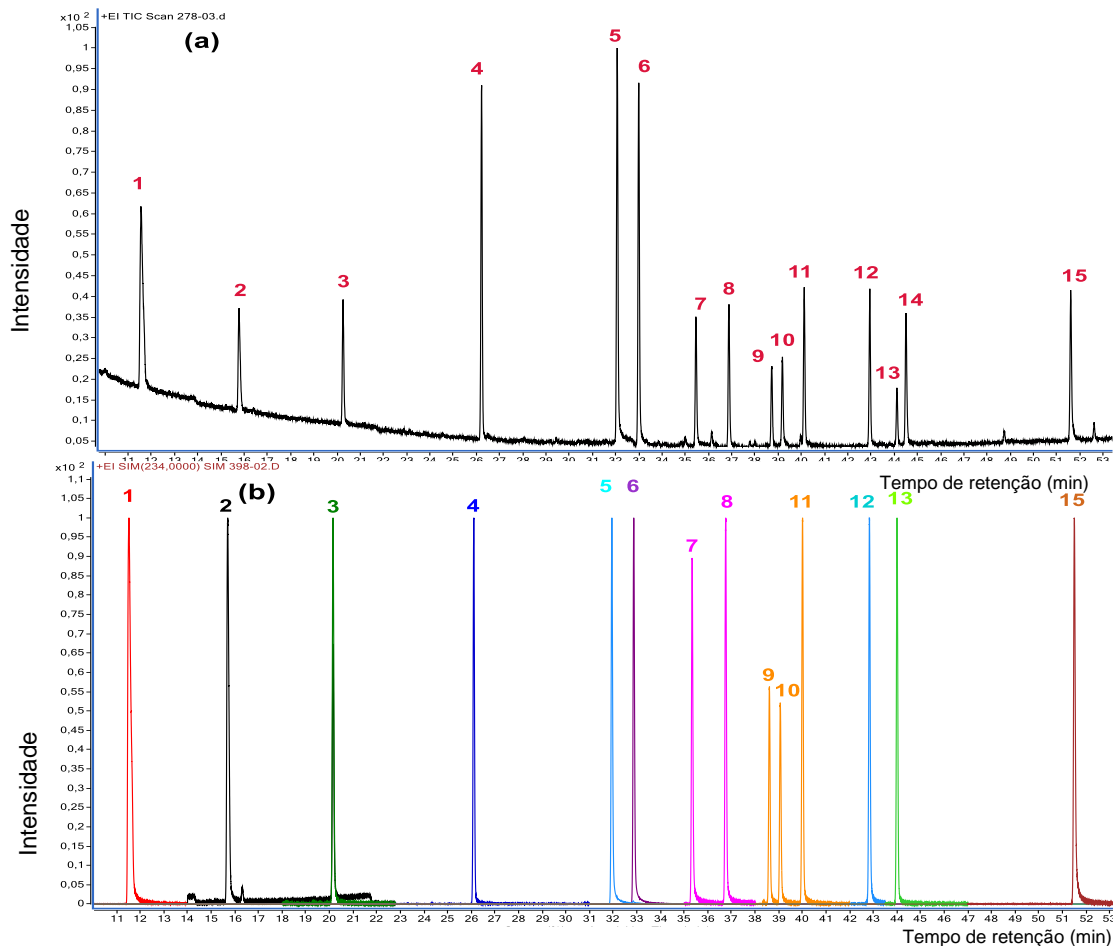


Figura 8: (a) Cromatograma GC-MS/MS no modo varredura de íons totais (SCAN) para o mix de padrões contendo os padrões com concentração de 1 mg L^{-1} e (b) cromatograma GC-MS/MS no modo íon seletivo (SIM) para o mix de padrões contendo os padrões com concentração de $0,25 \text{ mg L}^{-1}$. Número do pico corresponde ao analito: (1) benzotiofeno; (2) 3-metilbenzotiofeno; (3) 2,3-dimetilbenzotiofeno; (4) 2,3,4-trimetilbenzotiofeno; (5) dibenzotiofeno; (6) fenantreno; (7) 4-metildibenzotiofeno; (8) 1-metildibenzotiofeno; (9) 4,6-dimetildibenzotiofeno; (10) 2,4-dimetildibenzotiofeno; (11) 1,4-dimetildibenzotiofeno; (12) 2,4,7-trimetildibenzotiofeno; (13) 4,6-dietildibenzotiofeno; (14) 4-butildibenzotiofeno; 15) benzonaftotiofeno. Condições cromatográficas descritas no item 3.6.1.

Os analitos incluídos no mix são compostos comumente empregados como marcadores geoquímicos em amostras de petróleo e representam a maioria das classes/subclasses químicas presentes Chakhmakhchev e Suzuki ⁴⁴. A análise no modo SCAN (**Figura 8A**), possibilitou obter o tempo de retenção referente a cada um dos marcadores sulfurados e, através do espectro de massas, informações sobre a fragmentação da molécula e identidade do pico no cromatograma. O 4-butildibenzotiofeno (pico 14) presente no mix de padrões na análise SCAN, foi excluído nas demais análises pois constatou-se que este composto não é utilizado na avaliação de parâmetros geoquímico do petróleo.

A partir dos resultados obtidos no modo SCAN, foram confirmados os íons de cada composto monitoramento no modo SIM. Na **Tabela 7** estão as condições cromatográficas otimizadas para o modo SIM, estabelecidas em 10 janelas de tempo.

Tabela 7: Parâmetros cromatográficos otimizados no modo Monitoramento Seletivo de Íons (SIM) para a determinação dos compostos sulfurados estudados.

Composto	Nº pico*	Íon principal (m/z)	Janela de Tempo	t _R (min.)
benzotiofeno	(1)	134	1	11,58
3-metilbenzotiofeno	(2)	147	2	15,80
2,3-metilbenzotiofeno	(3)	162	3	20,27
2,3,4-trimetilbenzotiofeno	(4)	176	4	26,23
dibenzotiofeno	(5)	184	5	32,08
fenantreno	(6)	178	5	33,00
4-metildibenzotiofeno	(7)	198	6	35,47
1-metildibenzotiofeno	(8)	198	6	36,89
4,6-dimetilbenzotiofeno	(9)	212	7	38,73
2,4-dimetilbenzotiofeno	(10)	212	7	39,20
1,4-dimetilbenzotiofeno	(11)	212	7	40,13
2,4,7-trimetildibenzotiofeno	(12)	226	8	42,96
4,6-dietildibenzotiofeno	(13)	240	9	44,12
benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno	(15)	234	10	51,62

* corresponde aos picos identificados na Figura 8b.

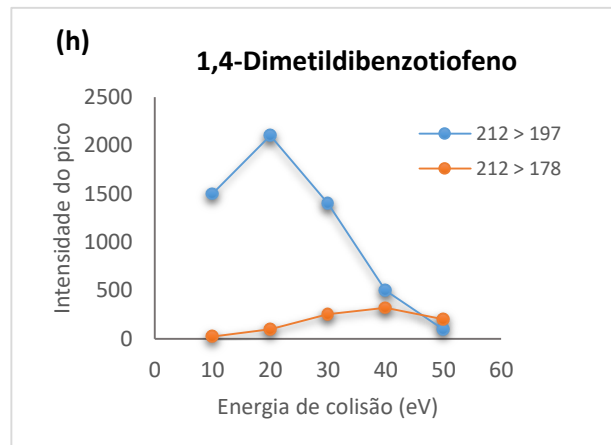
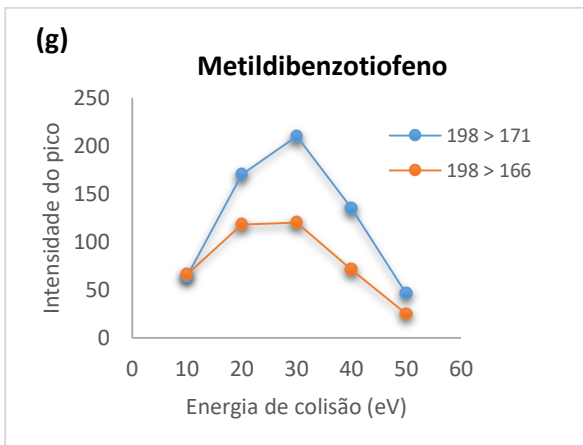
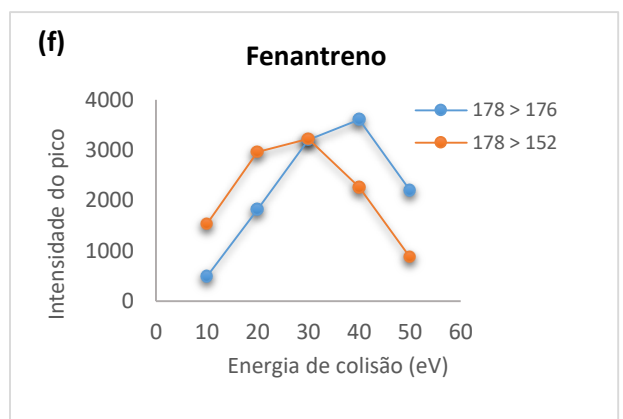
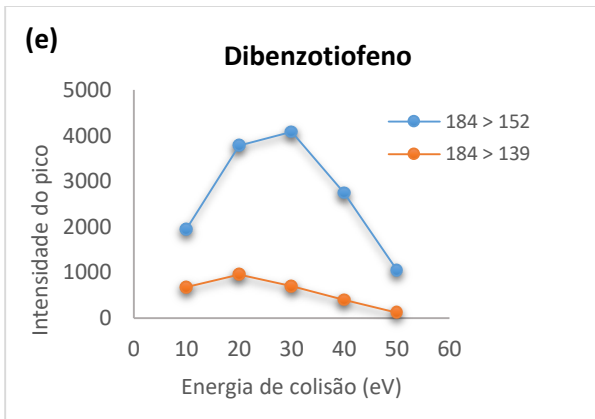
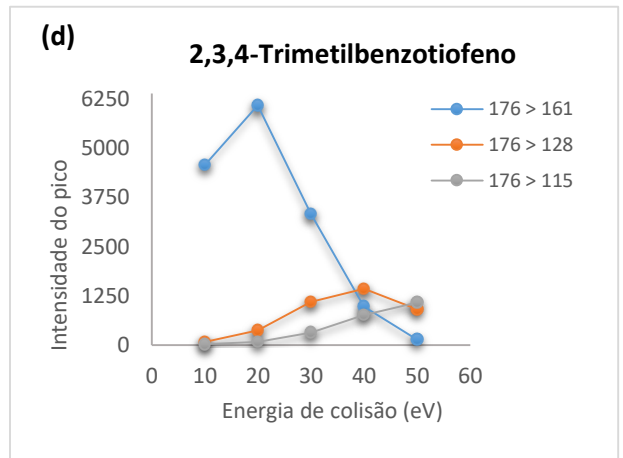
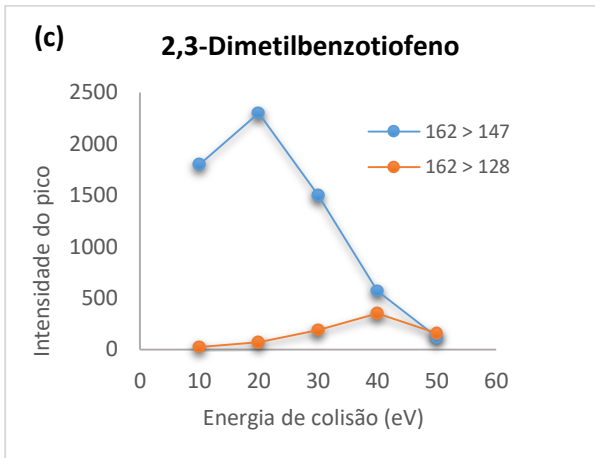
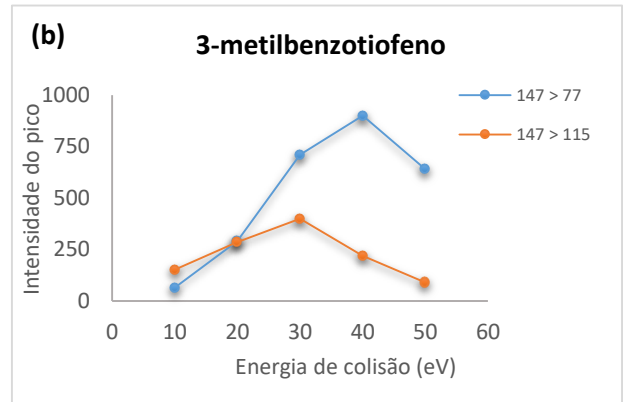
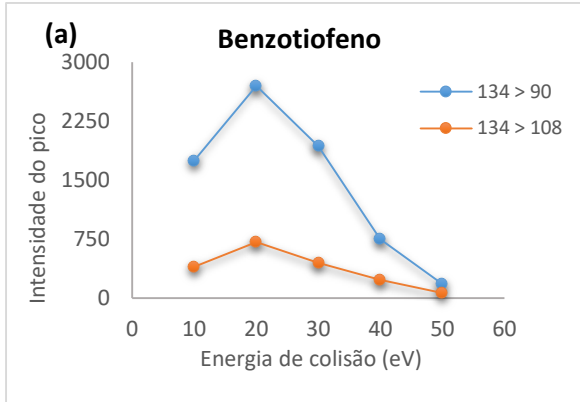
4.2.2 Modo de Monitoramento de reações múltiplas

Dentre os parâmetros que afetam o desempenho de um método GC-MS/MS no modo MRM está a seleção adequada do íon precursor e dos íons produtos, bem como a energia de colisão (CE) para cada transição, eles permitem uma corrida seletiva com alta sensibilidade do composto a ser determinado. O aumento da CE acelera os íons e conseqüentemente ocorre o aumento da intensidade dos choques com o gás inerte na cela de colisão. Esse processo pode causar a formação de vários fragmentos advindos de um mesmo composto. No caso do MRM é importante que ocorra a formação de fragmentos específicos do íon precursor e que sejam de alta intensidade.

Neste estudo, conforme descrito no item 3.6.2 letra C, utilizou-se a estratégia de otimizar as energias de colisão variando de 10 a 50 eV, em intervalos de 10 eV para obter a melhor intensidade de sinal para cada transição “íon precursor → íon produto”. Pode-se observar na **Figura 9**, todos os gráficos gerados a partir do software Excel das energias de colisões para cada transição.

Conforme **Figura 9**, os gráficos apresentam 2 ou 3 gaussianas, a linha em azul representa a otimização das CE para a transição de maior intensidade, utilizada para as análises quantitativas, as quais espera-se uma maior detectabilidade no momento da dissociação induzida por colisão com o gás inerte na cela de colisão (q2). O formato gaussiano dos gráficos demonstra as energias ótimas de colisão para cada um dos compostos avaliados. As linhas em laranja e cinza correspondem a otimização das CE para as transições de confirmação, que auxiliam nas análises qualitativas para o método proposto.

A CE para os isômeros 1-MDBT e 4-MDBT e para os isômeros 2,4-DMDBT; 1,4-DMDBT e 4,6-DMDBT seguiram o mesmo comportamento, por isso, optou-se pela representação gráfica de apenas um dos padrões (**Figura 9** “g” e “h”, respectivamente).



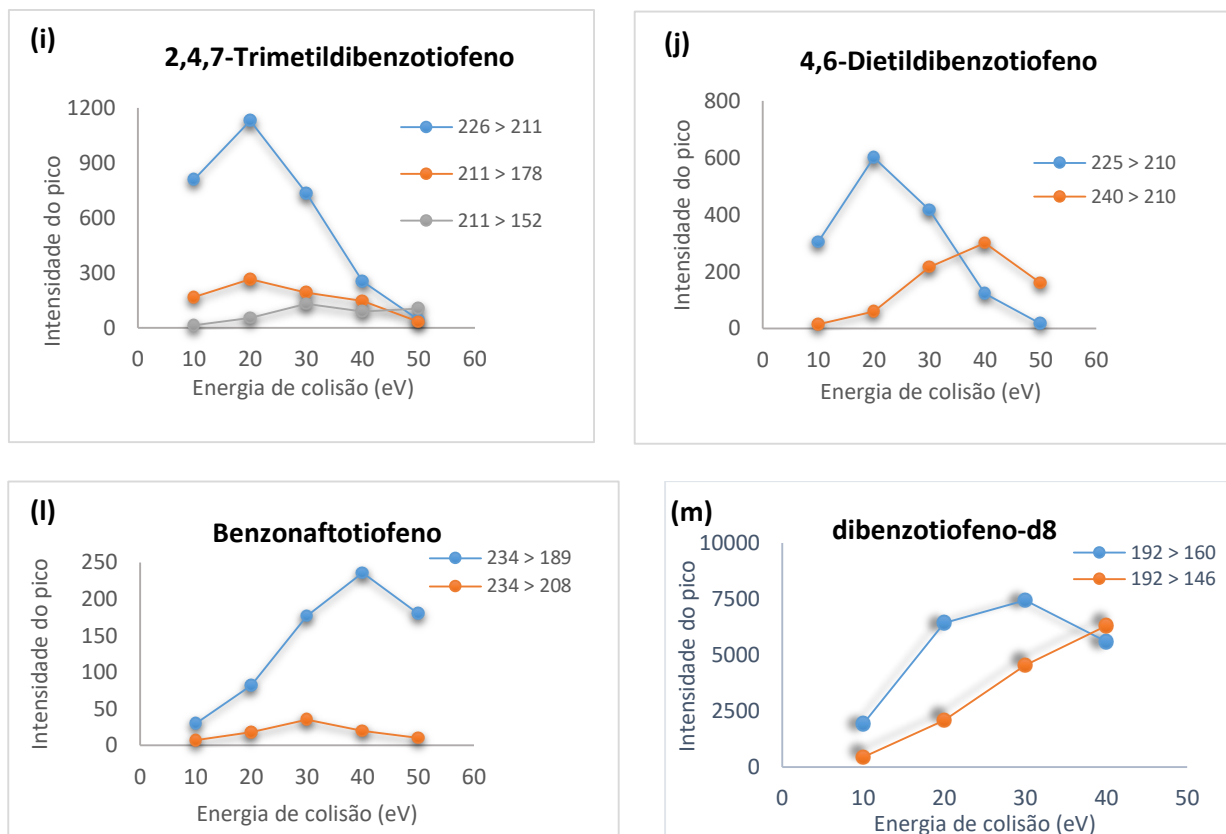


Figura 9: Resposta para cada transição MRM em função da energia de colisão (eV) empregada para os padrões de marcadores sulfurados em estudo.

Após a otimização das energias para cada transição, os compostos foram definidos em 10 janelas, sendo que cada janela monitora uma quantidade determinada de íons em um determinado intervalo de tempo. Fez-se necessário realizar esta divisão, pois quanto menor a quantidade de íons monitorada em um pequeno espaço de tempo, maior será a sensibilidade¹¹². Caso contrário, haverá uma diminuição desta devido ao pouco tempo para monitorar cada íon.

Na **Tabela 8** estão as condições de análise para os 14 marcadores sulfurados avaliados por GC-MS/MS, modo MRM, com seus respectivos tempos de retenção, janela de análise, íons precursores e produtos e a energia de colisão das transições monitoradas. Para cada composto foram selecionadas duas ou três transições características, a transição mais intensa foi utilizada para a quantificação e a segunda transição mais intensa para a confirmação dos mesmos. Para alguns compostos, como 2,3,4-TMBT e 2,4,7-TMDBT foi necessário o emprego de uma terceira transição a fim diferenciar os isômeros de posição.

Tabela 8: Condições empregadas para análise de cada composto, na corrida GC-MS/MS (MRM), com informações sobre: tempo de retenção t_R , transições utilizadas, energias de colisão otimizada para cada transição monitorada.

Composto	Janela	t_R (min.)	Primeira transição - Quantificação			Segunda transição - Confirmação		
			Íon precursor (m/z)	Íon produto (m/z)	CE	Íon precursor (m/z)	Íon produto (m/z)	CE
benzotiofeno	1	11,58	134	90	20	134	108	20
3-metilbenzotiofeno	2	15,77	147	77	40	147	115	30
2,3-metilbenzotiofeno	3	20,18	162	147	20	162	128	40
2,3,4-trimetilbenzotiofeno	4	26,14	176	161	20	176	128	40
Dibenzotiofeno d-8	5	31,95	192	160	30	192	146	40
dibenzotiofeno	5	31,93	184	152	30	183	139	20
fenantreno	5	33,00	178	152	30	178	176	40
4-metildibenzotiofeno	6	35,34	197	171	30	198	166	30
1-metildibenzotiofeno	6	36,76	197	171	30	198	166	30
4,6-dimetildibenzotiofeno	7	38,63	212	197	20	212	178	40
2,4-dimetildibenzotiofeno	7	39,13	212	197	20	212	178	40
1,4-dimetildibenzotiofeno	7	40,01	212	197	20	212	178	40
2,4,7-trimetildibenzotiofeno	8	42,82	226	211	20	211	178	20
4,6-dietildibenzotiofeno	9	43,96	225	210	20	211 240	152 210	30 40
benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno	10	51,50	234	189	40	234	208	30

Na **Figura 10** observa-se o cromatograma gerado no modo MRM para os 14 padrões dos compostos de interesse estudados com a transição primária e a transição secundária utilizada para confirmação do pico referente ao analito no cromatograma.

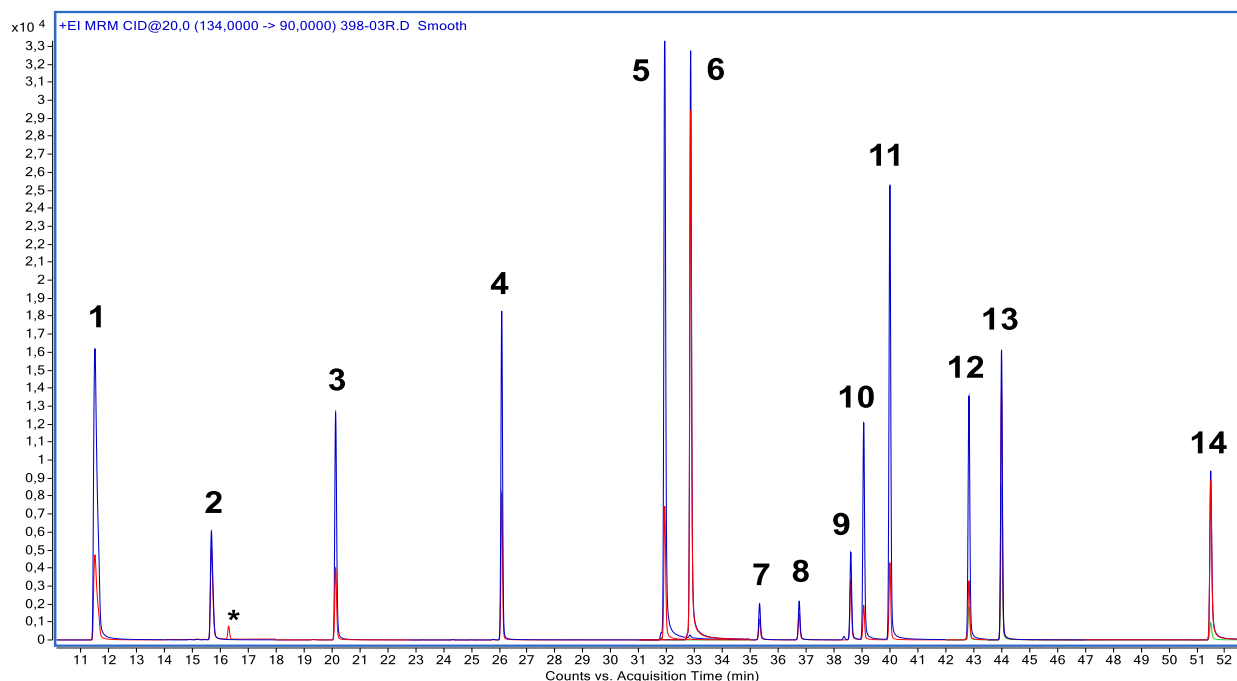


Figura 10: Cromatograma GC-MS/MS no modo MRM com as transições e energias otimizadas para o mix dos padrões (0,25 mg L⁻¹). Número do pico corresponde ao analito: (1) benzotiofeno; (2) 3-metilbenzotiofeno; (3) 2,3-dimetilbenzotiofeno; (4) 2,3,4-trimetilbenzotiofeno; (5) dibenzotiofeno; (6) fenantreno; (7) 4-metildibenzotiofeno; (8) 1-metildibenzotiofeno; (9) 4,6-dimetildibenzotiofeno; (10) 2,4-dimetildibenzotiofeno; (11) 1,4-dimetildibenzotiofeno; (12) 2,4,7-trimetildibenzotiofeno; (13) 4,6-dietildibenzotiofeno; (14) benzonaftotiofeno. Linhas em azul correspondem as transições primárias, linhas em vermelho as transições secundárias e linhas em verde, transições terciárias. *Condições cromatográficas descritas no item 3.6.1 letra B.*

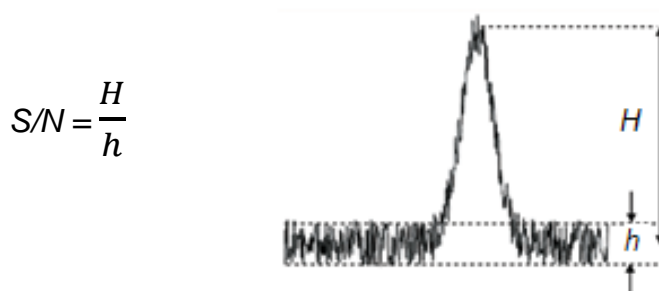
Com as condições cromatográficas e energias de colisões selecionadas para cada composto de interesse, deu-se prosseguimento a próxima etapa do trabalho, em que a comparação entre os modos de aquisição SIM e MRM foi investigada para uma das amostras de petróleo.

4.2.3 Comparação qualitativa entre o modo SIM e MRM

Após a etapa de otimização do método SIM e MRM com os padrões, estes foram então aplicados para análise da amostra P1 em um estudo qualitativo. Nos dois modos aquisição, o cromatógrafo operou nas mesmas condições. Sabe-se que o uso do modo SIM fornece um maior nível de seletividade do que o modo SCAN e também de outros métodos de detecção, como por exemplo detector de ionização em chama (FID) ¹¹³. Para a análise de marcadores sulfurados em amostras de petróleo o modo SIM é empregado na maioria dos trabalhos, com raras exceções. Entretanto, a seletividade analítica alcançada muitas vezes não é suficiente pois não elimina o potencial de interferência da matriz ¹¹. Por outro lado, o modo MRM permite o monitoramento de reações de dissociação induzida por energia de colisão específica e, como resultado, melhorias significativas na seletividade analítica podem ser alcançadas. Logo, alterar o modo de aquisição de SIM para MRM aumenta a seletividade da etapa determinante; as interferências da matriz diminuem significativamente. Menos interferências significam também uma melhoria da sensibilidade.

O objetivo desta etapa do trabalho foi comparar em termos qualitativos os resultados do SIM e MRM usando o espectrômetro de massas triplo quadrupolo a fim de demonstrar, especificamente para os compostos estudados, o maior potencial do modo MRM e as interferências presentes no modo SIM (comumente empregado na determinação de marcadores sulfurados).

Os modos de aquisição foram avaliados em termos de seletividade e de relação S/N associada a cada composto. O cálculo da razão S/N é baseado na altura do sinal do pico e na altura do ruído próximo ao analito alvo ¹¹⁴, de acordo com a fórmula:



Onde: H = altura do sinal do pico e h = altura do ruído próximo ao pico

Os valores de S/N considerados aceitáveis em cromatografia são iguais e/ou superior a 3 para detecção (análise qualitativa) e para quantificação ≥ 10 ¹⁵.

As **Figuras de 11 a 21** mostram os cromatogramas no modo SIM e no modo MRM dos marcadores sulfurados em estudo, separados por classe química para discussão. O emprego do modo MRM permitiu a identificação dos marcadores sulfurados selecionados presentes na amostra em estudo, além de alguns isômeros. A seleção das transições específicas permite observar seletivamente estes sulfurados, geralmente menos intensos relativamente a outros tipos de compostos majoritários, de outras classes, que coeluem com os mesmos em análises por GC-MS convencional ¹⁴.

Pelo modo SIM, não foi possível identificar os compostos 2,3-DMBT, 3-MBT, 2,3,4-TMBT, 2,4,7-TMDBT e 4-DEDBT, além disso, observou-se baixa seletividade e problemas de coeluições que serão discutidos de forma mais detalhada ao longo do texto. No modo SIM a seleção de íons específicos dos compostos de interesse aumenta a seletividade se comparada ao modo SCAN, entretanto, não elimina por completo todos os interferentes, pois compostos presentes na matriz que também tenham esse íon, irão gerar sinal analítico, conforme será demonstrado através dos espectros de massas dos padrões.

A maioria dos cromatogramas apresentaram razão S/N no modo MRM superiores quando comparado ao modo SIM, confirmando que o mesmo é um método que apresenta maior sensibilidade. Os valores individuais de S/N estão indicados nas **Figuras 11 a 21**. Outro fator que pode ser observado é a maior seletividade no cromatograma no modo MRM o que garante uma maior performance para a quantificação dos marcadores sulfurados presente no petróleo.

Benzotiofenos

A seleção das transições MRM específicas para o benzotiofeno (BT) (**Figura 11a e 11b**) permitiu a detecção do composto na amostra de petróleo (**Figura 11c**). No cromatograma da amostra observa-se o mesmo perfil obtido no padrão, bem como o tempo de retenção (T_R), confirmando assim a identidade do composto. No modo SIM (**Figura 11d**) o BT não foi detectado. Ao comparar os dois modos de operação para a amostra, observa-se claramente o aumento de sensibilidade proporcionado pelo modo MRM, com S/N de 16.

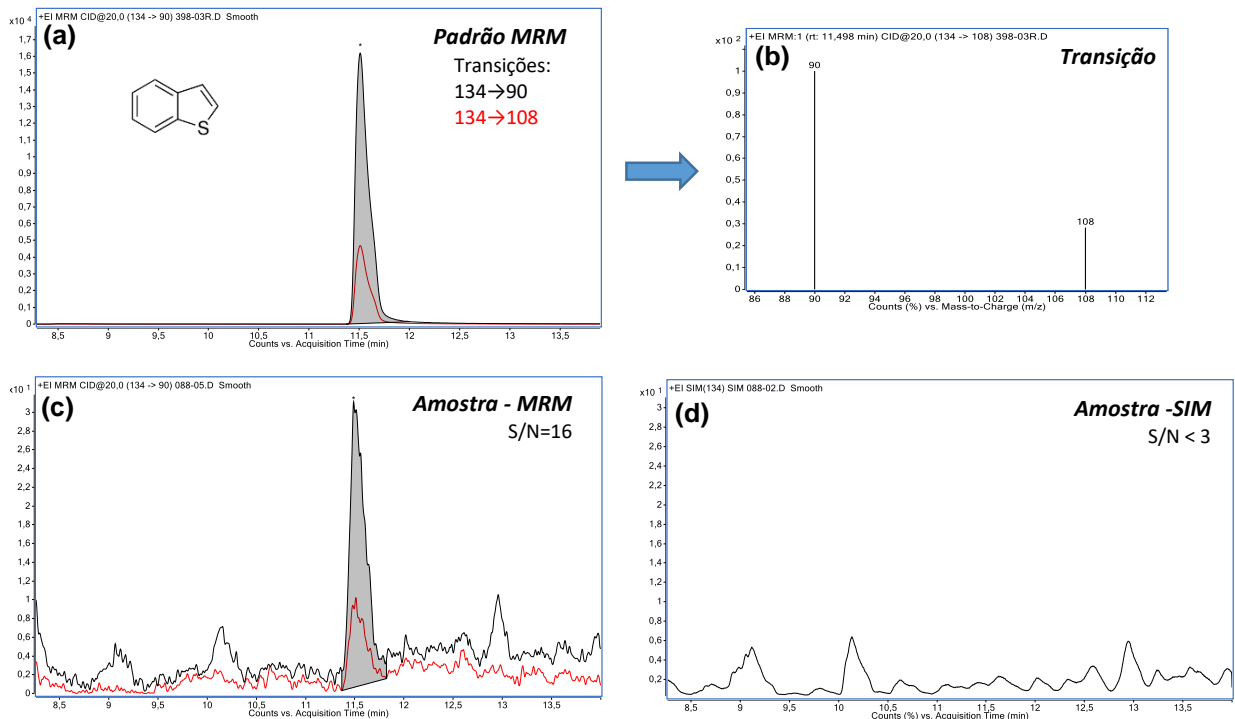


Figura 11. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de benzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 134. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

A literatura relata a coeluição do BT com C4-benzeno em análises no modo SIM e com naftaleno em análises no modo SCAN⁴⁸. Os espectros de massas dos referidos padrões podem ser visualizados na **Figura 12**. Considerando que a seleção

das transições específicas elimina a possibilidade de identificação do naftaleno, pois ele não apresenta o íon m/z 134 no espectro de massas (**Figura 12b**), e que no caso do C4-benzeno (**Figura 12c**) apesar da m/z 134 estar presente e não ser o íon principal, esse composto pode não estar presente na amostra em estudo, justificando assim o perfil do modo SIM, sem picos.

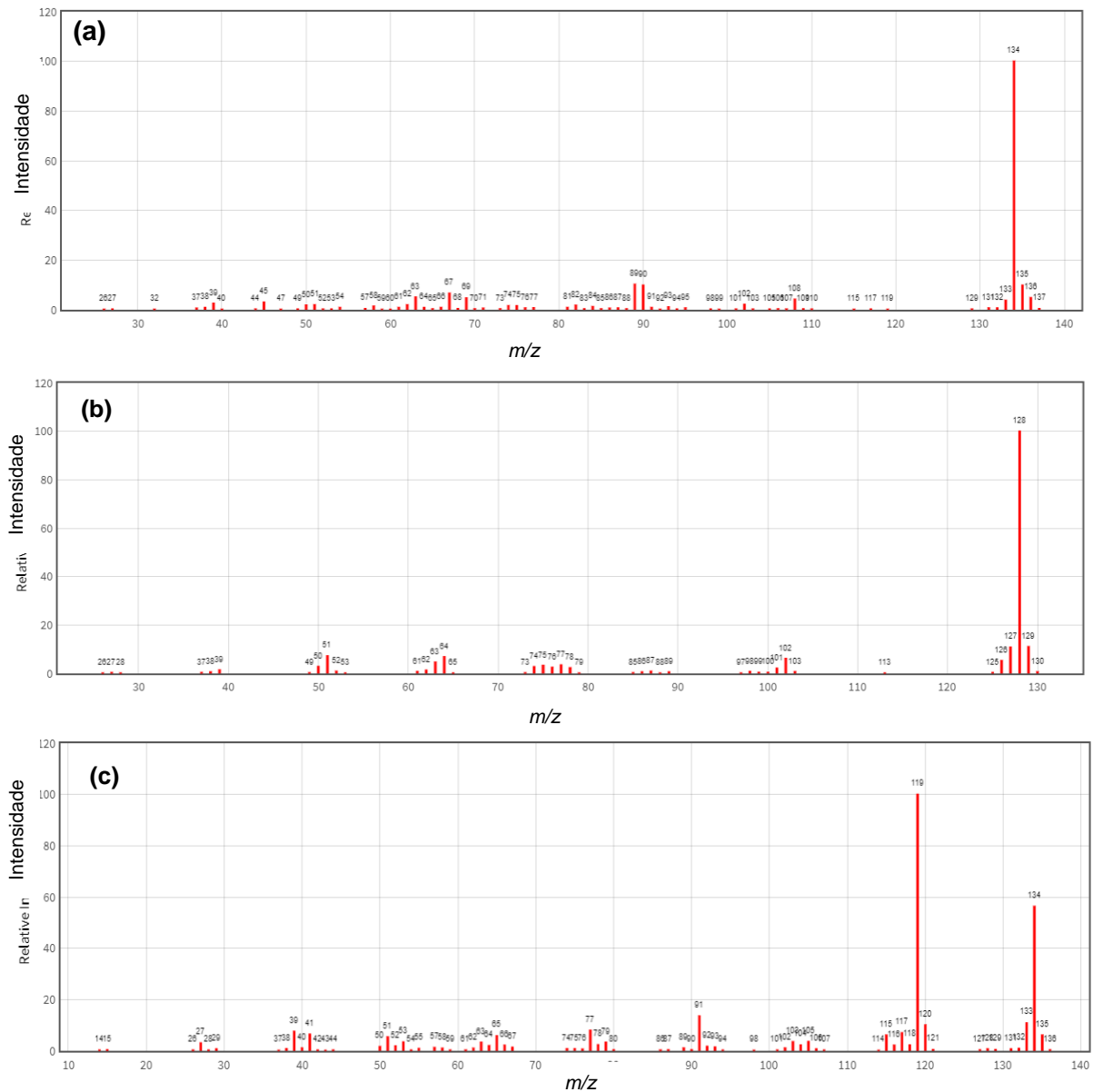


Figura 12: Espectros de massas para os padrões (a) benzotiofeno (b) naftaleno e (c) C4-benzeno. Fonte: Biblioteca NIST webbook ¹¹⁶

Na **Figura 13** é possível observar os cromatogramas referentes a janela de eluição para os metil-benzotiofenos. Pelo perfil das transições visualizadas no padrão

3-MBT (**Figura 13a e 13b**) é possível verificar que na amostra de petróleo (**Figura 13c**) há a presença deste composto (razão S/N de 8,5), entretanto, não é possível afirmar a presença de outros isômeros, visto que o comportamento da transição não se repete com o mesmo padrão de intensidade. Já no modo SIM (**Figura 13d**), observa-se um pico com intensidade (relação S/N de 10,7). Essa elevada intensidade do pico pode ser justificada pela coeluição com C1-naftaleno (Anexo A; Figura b) ^{48, 70, 117} que também apresenta como fragmento o íon 115, levando a uma identificação errônea do composto mesmo usando a seletividade do modo SIM.

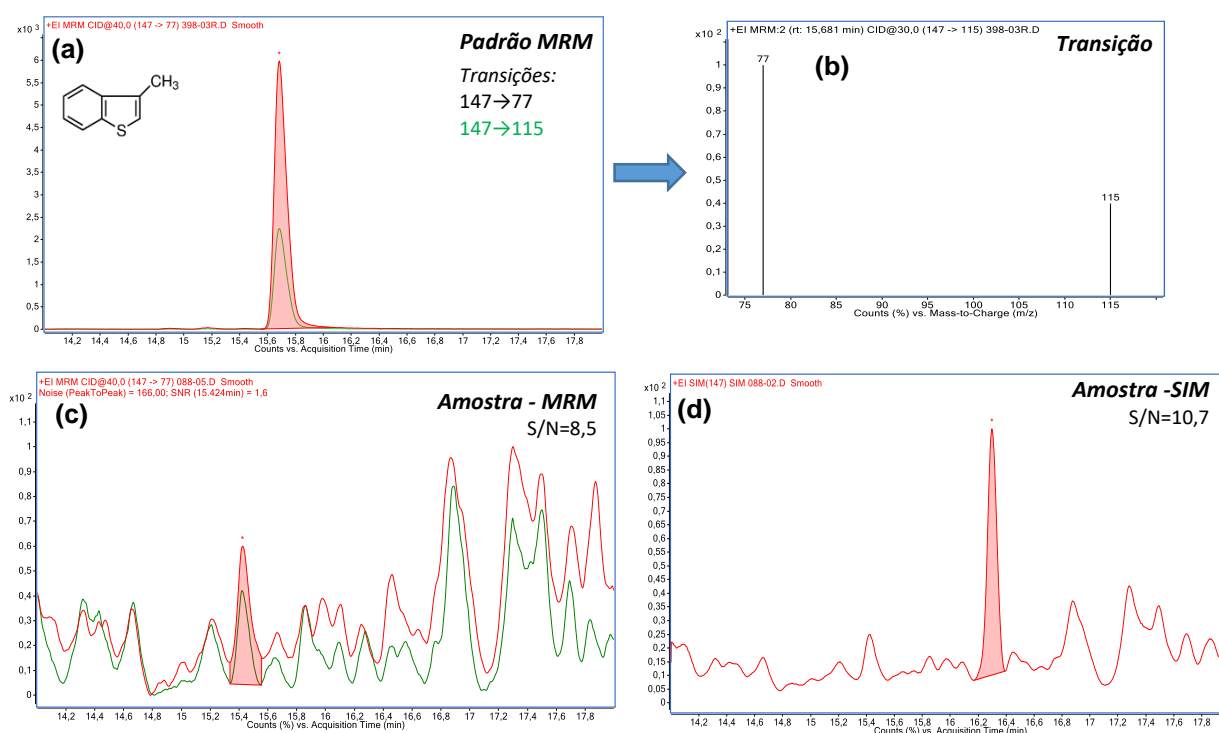


Figura 13. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de 3-metilbenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 147. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Para a janela de tempo correspondente aos C2-DMBT é possível verificar o cromatograma para o padrão 2,3-DMBT (**Figura 14a**) e a alta seletividade e sensibilidade do modo MRM frente ao modo SIM para a amostra (**Figuras 14c e 14d**). A relação S/N foi bastante superior no modo MRM, também se verifica, além do padrão, a presença de outros dois isômeros na amostra (T_R 19,2 e T_R 21,6 min. -

Figura 11c). A baixa seletividade do modo SIM (**Figura 14d**) é observada, não sendo possível a identificação do composto (relação S/N<3), nem de possíveis isômeros devido a falta de sensibilidade. A literatura relata a coeluição de C2-BT (Anexo A – Figura c) com C2-naftaleno (Anexo A – Figura d) em análises no modo SCAN, no modo SIM não ocorre devido ao espectro dos C2-naftaleno não apresentar o íon 162. O que pode justificar a baixa sensibilidade do modo SIM, já que não há possibilidade de coeluição.

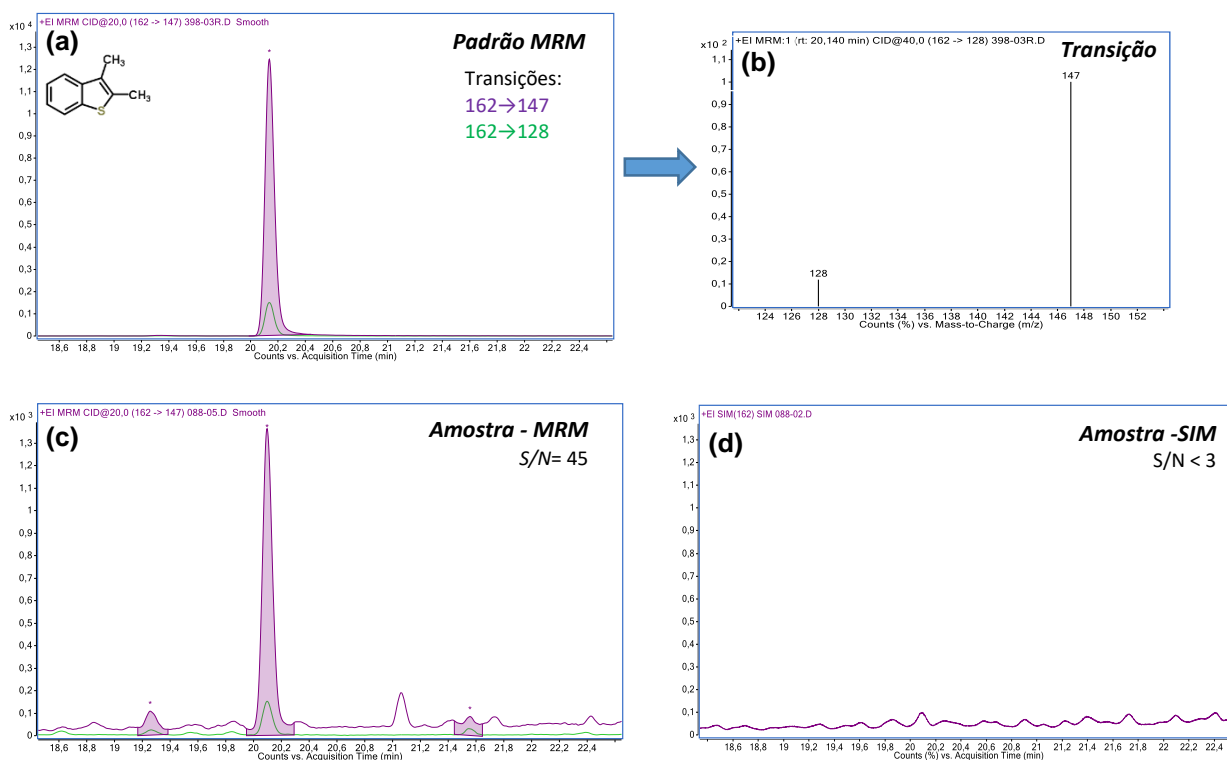


Figura 14. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de 2,3-dimetilbenzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 162. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Na **Figura 15** observa-se os cromatogramas referentes ao C3-BT. A partir do padrão do 2,3,4-TMBT e respectivas transições (**Figura 15a** e **15b**) é possível identificar o composto na amostra (**Figura 15c**), além de vários isômeros de posição em maior e menor intensidade. O cromatograma da análise SIM (**Figura 15d**) apresenta grande quantidade de ruído, o que não ocorre no modo MRM. Além disso,

há picos de maior intensidade no final da janela, indicando provável falso positivo (presença de outro composto que também tem o íon 176), uma vez que na análise MRM, é mais específica e seletiva, estes picos não foram detectados. Os compostos detectados ao final da janela no modo SIM não correspondem aos C3-naftalenos (Anexo A – Figura g), pois o íon m/z 176 não está presente no espectro de massas desses compostos.

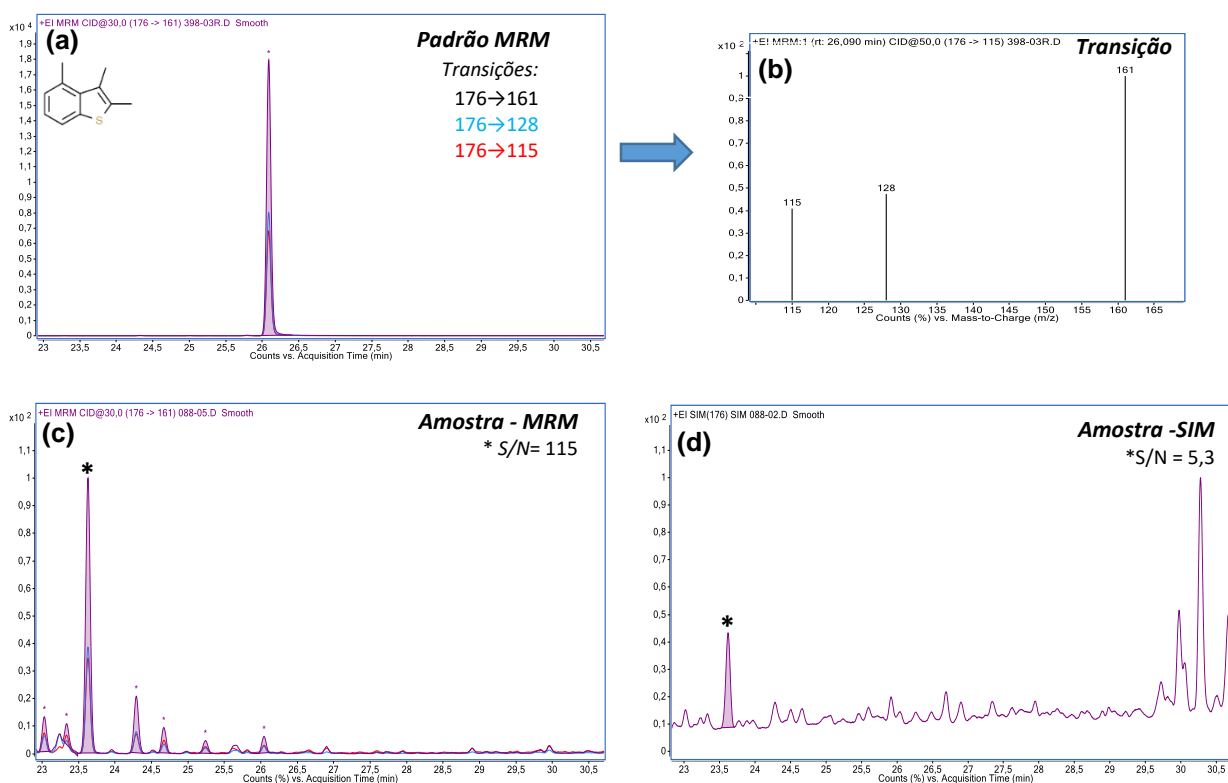


Figura 15. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de 2,3,4-trimetilbenzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 176. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Dibenzotiofenos

Para a classe de compostos sulfurados que consiste de dois anéis aromáticos fundido ao anel central tiofeno, o DBT, (**Figura 16a**) foi detectado na amostra tanto na análise no modo MRM (**Figura 16c**) quanto no modo SIM (**Figura 16d**). Há maior sensibilidade (razão S/N de 64) e seletividade para o analito em questão no modo

MRM. Observa-se neste mesmo cromatograma um outro pico (t_R 31,32 min) que claramente se diferencia do DBT por não apresentar intensidade para a transição 183 \rightarrow 139. De acordo com a literatura ^{11, 70, 117} o DBT elui na mesma região dos C4-naftalenos que também tem o íon 184 e 152 com alta intensidade (Anexo A – Figura i) o que não ocorre para o íon 139, comprovando assim se tratar de um outro composto facilmente diferenciável por MRM. No modo SIM não é possível diferenciar os picos, a intensidade é o oposto do modo MRM, provavelmente devido a provável coeluição com C4-naftaleno.

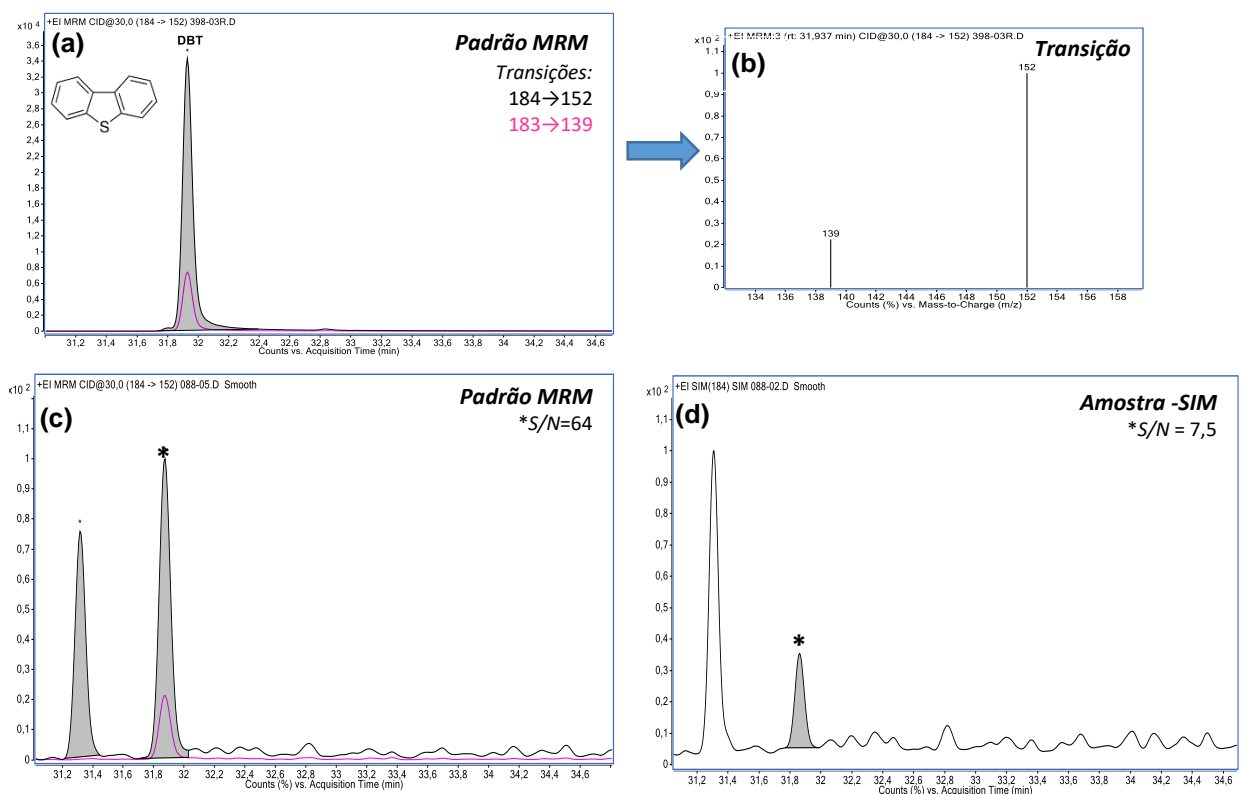


Figura 16. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de dibenzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 184. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Na janela de tempo que abrange os C1-DBT, dois padrões foram avaliados, o 4-MDBT e 1-MDBT, conforme cromatograma MRM, **Figura 17a**. Na amostra (**Figura 17c**), três isômeros foram identificados através das transições de quantificação e confirmação, sendo os padrões 4-MDBT (T_R 35,27 min.) e 1-MDBT (T_R 36,68 min.) e

um terceiro isômero (T_R 35,93 min.) que, de acordo com a literatura, corresponde a soma do 2+3MDBT ^{11, 118}. O emprego do modo MRM não permite a separação de isômeros que coeluem, uma vez que a separação ocorre na coluna cromatográfica, a técnica de detecção MS/MS permite a identificação por diferenciação de picos previamente separados que possuem diferentes espectros de massas. A coeluição entre o 2+3MDBT já foi relatada em estudo de amostra de óleo cru por GC-MS/MS ¹⁴. O cromatograma obtido na análise no modo SIM apresentou baixa seletividade, e menor razão S/N (**Figura 17d**), além de não ser possível identificar entre os cinco picos quais seriam os 4 isômeros. De acordo com Chiaberge e colaboradores ¹⁴, os C1-DBTs possuem tempo de retenção semelhante aos C5-naftalenos, os quais podem ser diferenciados no modo MRM (transição 198 >166 mais intensa e ausência da transição 197 > 171) (Anexo A – Figura m).

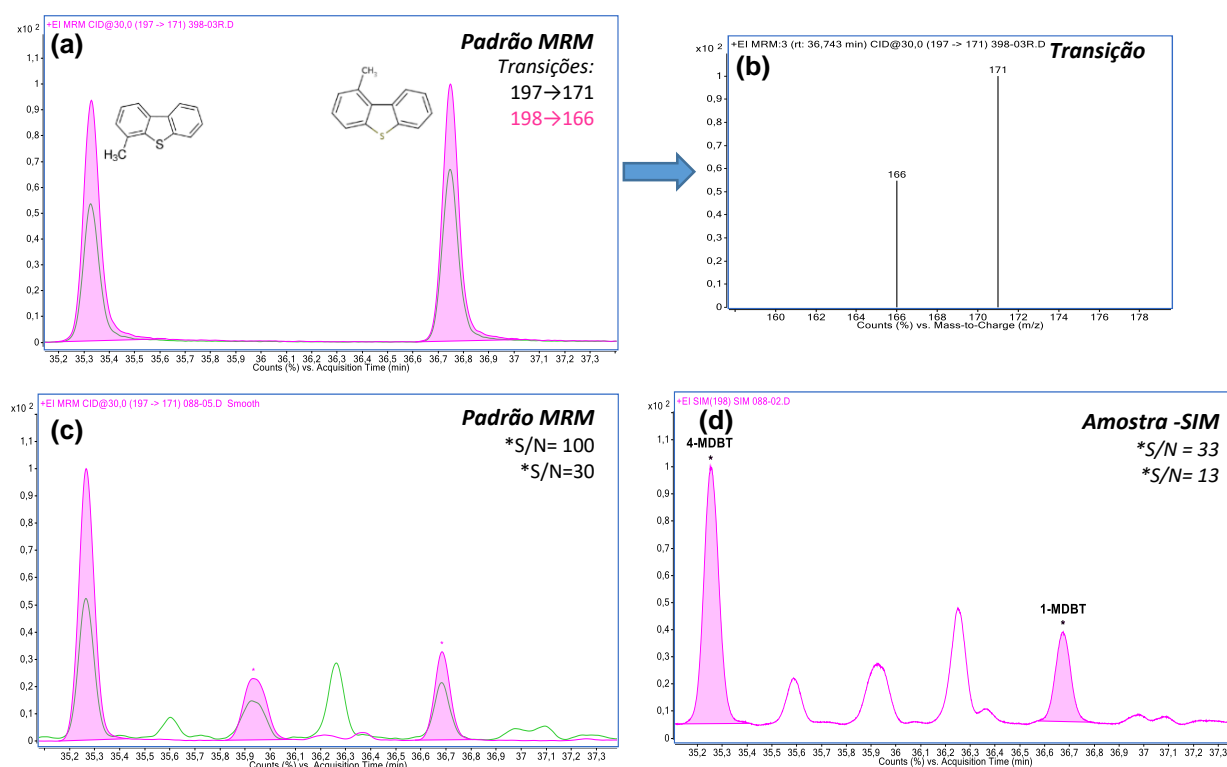


Figura 17. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de 4-;1-metildibenzotiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 198. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

A **Figura 18** mostra o estudo comparativo para os C2-DBT. Para essa subclasse, 3 padrões foram avaliados no modo MRM: 4,6-DMDBT, 2,4-DMDBT e 1,4-DMDBT (**Figura 18a e 18b**). Na amostra, os compostos alvo foram identificados seletivamente, além de alguns isômeros, possíveis de identificação pelo comportamento das transições (**Figura 18c**). No modo SIM (**Figura 18d**), o número de picos foi praticamente igual ao MRM, a diferença é que em uma análise somente no modo SIM, todos os picos com sinal detectado seriam identificados como C2-DBT, levando a uma superestimação dos valores, o que não ocorre no modo MRM, onde pode-se constatar que os picos com T_R 38,3, 40,9 e 41,7 min. não correspondem a isômeros de C2-DBT.

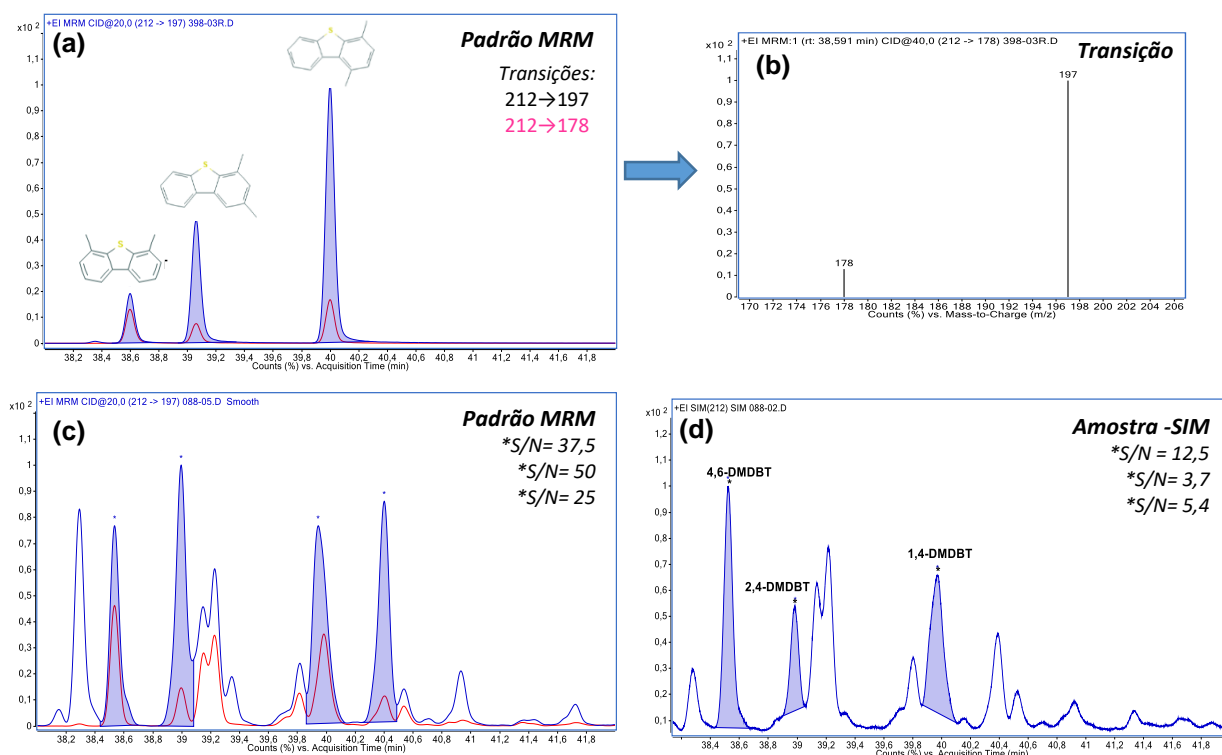


Figura 18. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de 4,6-; 2,4-; 1,4-dimetildibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 212. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Na **Figura 19** estão os compostos referentes aos dibenzotiofenos com três metilas (C3-DBT), o padrão avaliado foi o 2,4,7-TMDBT (**Figura 19a**). No cromatograma da amostra (**Figura 19c**) é possível observar a necessidade de ajuste

na janela de tempo, visto que o primeiro pico (T_R 42,1 min.) não ficou totalmente formado, ocorreu um “corte”. Essa constatação só foi verificada após a finalização da etapa experimental. Para os próximos trabalhos, a alteração é necessária em termos de avaliação qualitativa. De qualquer forma, não há problemas com relação ao padrão de interesse pois o mesmo tem o T_R de 42,8 min. Observa-se no cromatograma referente a amostra (**Figura 19c**) que o 2,4,7-TMDBT (S/N de 15), está coeluído. Esse fato foi abordado por Li e colaboradores⁴⁹ e corresponde a coeluição do 2,4,7-TMDBT com outro isômero de posição, o 2,4,8-TMDBT. A separação desses compostos só seria possível empregando cromatografia bidimensional ou uma coluna cromatográfica específica. Pelo menos mais quatro isômeros foram identificados pelo perfil das transições MRM. Para o modo SIM (**Figura 19d**) a elevação da linha de base, diminui a relação S/N = 4,0, afetando a sensibilidade do método.

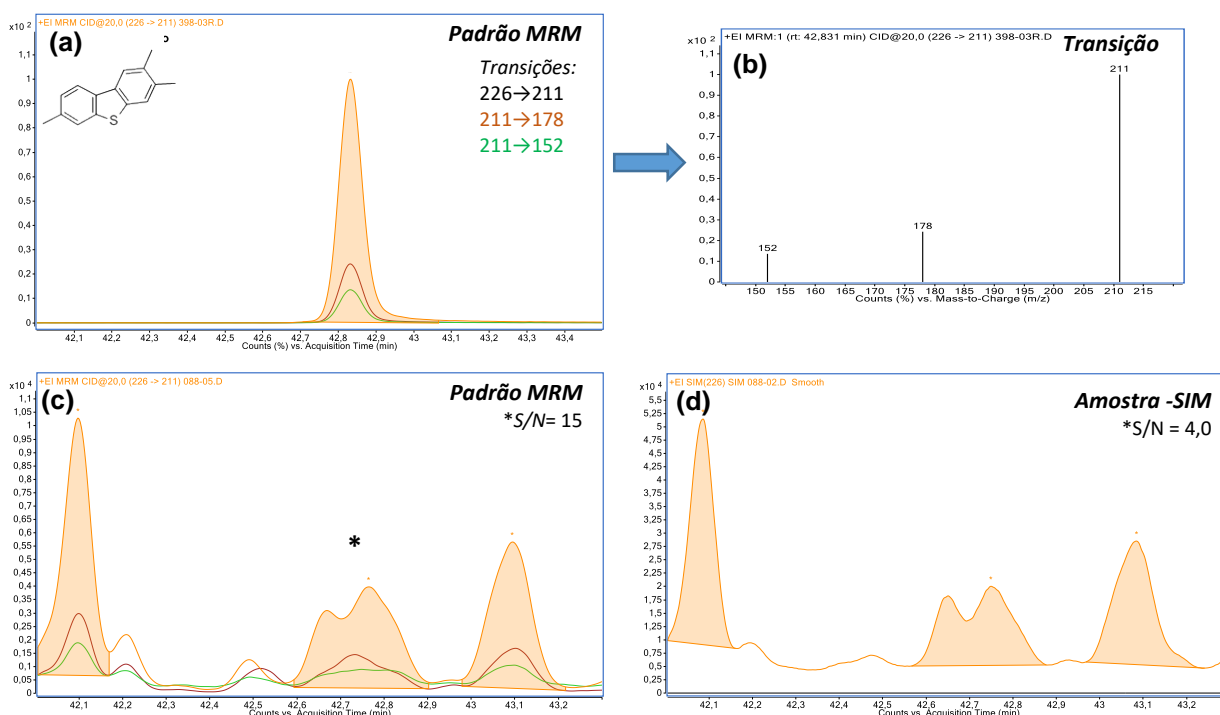


Figura 19. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de 2,4,7-trimetildibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 226 e 211. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Para a classe do C4-DBT, cujo padrão estudado foi o 4,6-DEDBT (**Figura 20a**) não foi detectada a presença na amostra de petróleo com razão S/N aceitável nem no

modo MRM (**Figura 20c**) nem no modo SIM (**Figura 20d**), apenas sinais de ruído são observados.

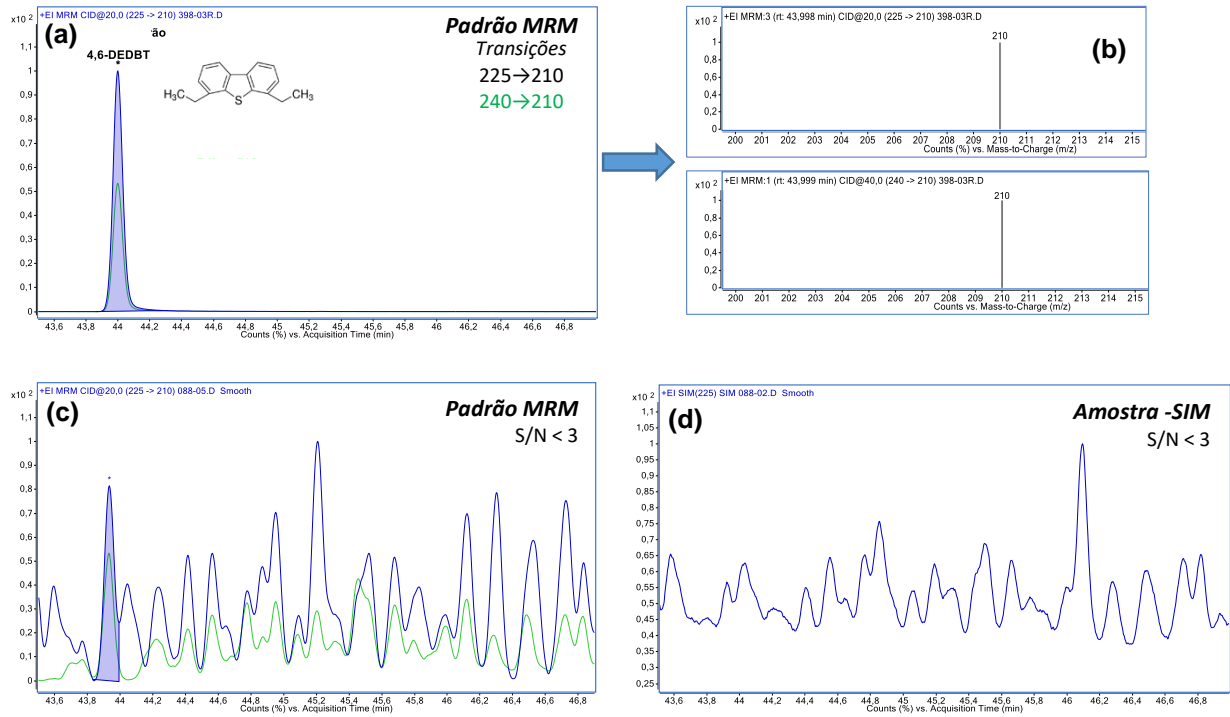


Figura 20. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de 4,6-dietildibenzotiofeno. (b) Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 225 e 240. (c) Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. (d) Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Benzonaftotiofenos

Para a classe dos benzonaftotiofenos, avaliou-se apenas o composto benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno, cujo cromatograma padrão está representado na **Figura 21a**, com respectivas transições na **Figura 21b**. Na amostra foram detectados outros dois picos que se referem aos isômeros benzo[b]nafto[2,1-d]tiofeno e benzo[b]nafto[2,3-d]tiofeno (**Figura 21c**), conforme descrito em Li *et al.*²⁵. No modo SIM, os valores da razão S/N foi inferior a 3,5 e houve a detecção de um número maior de picos do que os possíveis isômeros, isso pode levar a uma identificação equivocada. A coeluição do BNT com C4-fenantreno é relatada na literatura para o

modo SIM ^{4, 70, 117}, o espectro de massas característico apresenta o fragmento m/z 234. Porém, as transições específicas selecionadas no modo MRM garantem que os picos não estão sobrepostos aos referidos aromáticos. O mesmo não pode ser afirmado para o modo SIM.

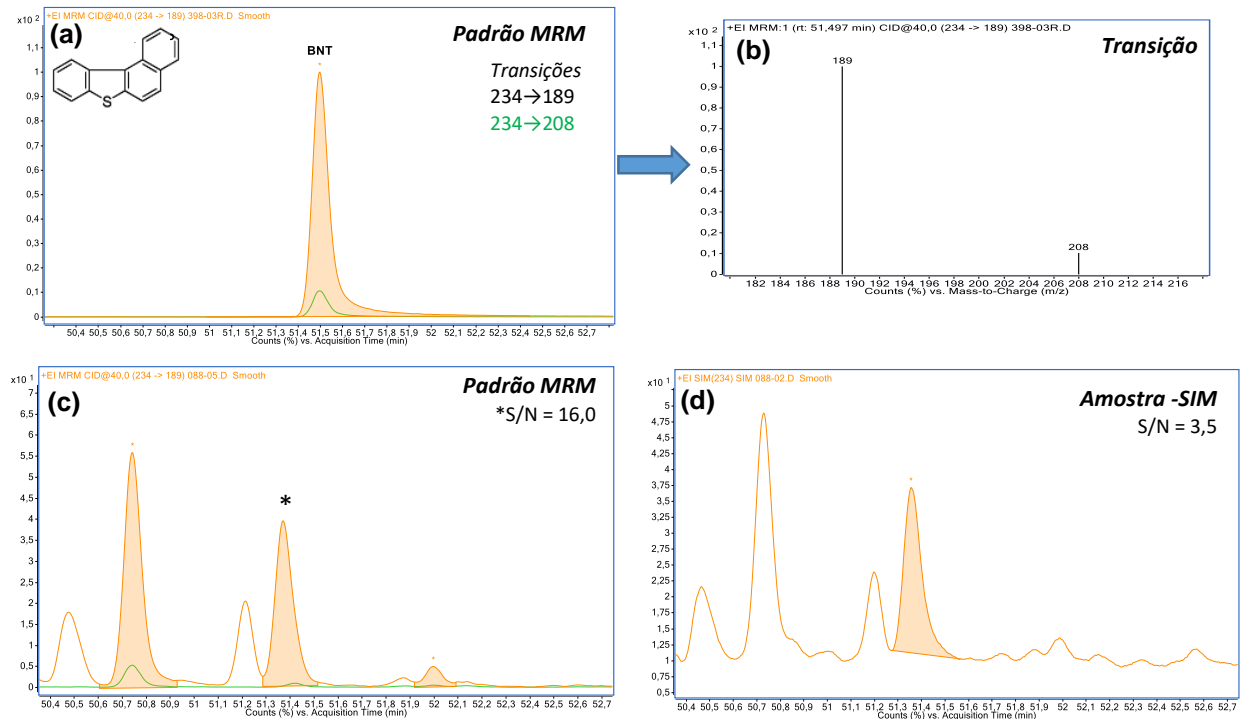


Figura 21. (a) Cromatograma de MRM com as duas transições "íon precursor - íon produto" para o padrão de benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno. **(b)** Espectro de massas obtido fragmentando o íon de razão m/z 234. **(c)** Cromatograma no modo MRM para a amostra de petróleo. **(d)** Cromatograma no modo SIM para a amostra de petróleo.

Os resultados qualitativos discutidos neste item, conforme esperado, mostram uma clara melhoria na sensibilidade e seletividade ao usar o modo MRM para a amostra em estudo. Além disso, foi possível verificar as limitações do modo SIM, amplamente empregado em estudos de marcadores sulfurados. O modo MRM oferece novas possibilidades para obter limites mais baixos de detecção e determinação em análises de marcadores sulfurados. Assim, optou-se pela realização da análise quantitativa nas oito amostras empregando apenas o modo MRM, conforme segue.

4.3 ANÁLISE QUANTITATIVA

Para demonstrar a aplicabilidade do método MRM otimizado, realizou-se a análise de alguns parâmetros de mérito. Constatou-se satisfatória seletividade, uma vez que a capacidade de determinar cada um dos compostos em presença de outros componentes tais como hidrocarbonetos aromáticos, e compostos de diferentes classes químicas foi possível pela boa resolução cromatográfica alcançada e o fato que análises qualitativas foram realizadas nos modos SIM e MRM, que demonstraram seletividade para o modo MRM, na detecção de compostos orgânicos sulfurados através da seleção de transições específicas.

4.3.1 Curva analítica

A partir das curvas analíticas foi possível a determinação da linearidade, faixa de trabalho e sensibilidade. Em função da ampla faixa de concentração estudada, não foi possível obter linearidade com apenas uma única curva analítica para os compostos 3-MBT e 2,3,4-TMBT. Com isso, foi necessária a divisão da curva, com obtenção de dois intervalos de concentração, como está representado na **Tabela 9**. Nawala e colaboradores ¹¹⁹ ao analisar amostras com presença de enxofre utilizando GC-MS/MS também empregaram a divisão da curva de calibração em faixas de concentração. Na **Tabela 9** é possível visualizar as equações da curva analítica e coeficiente de determinação (R^2) para os padrões de marcadores sulfurados em estudo.

Tabela 9: Parâmetros obtidos para equação da reta, coeficiente de correlação (R^2) e linearidade através da curva de calibração para os padrões dos marcadores sulfurados por GC-MS/MS, no modo MRM.

Composto	Equação da reta	R^2	Linearidade ($\mu\text{g L}^{-1}$)
benzotiofeno	$y = 95,476x + 1296,9$	0,9812	2-100
3-metilbenzotiofeno	$y = 27,697x + 339,79$	0,9721	2-100
	$y = 24,693x + 1649,3$	0,9922	100-1000
2,3-metilbenzotiofeno	$y = 28,332x + 1017,6$	0,9751	5-250
2,3,4-trimetilbenzotiofeno	$y = 28,357x + 304,62$	0,9804	2-100
	$y = 36,044x + 5021,04$	0,9965	250-1500
dibenzotiofeno	$y = 79,549x + 9289,8$	0,9917	100-1500
fenantreno	$y = 88,938x + 15021$	0,9826	100-2000
4-metildibenzotiofeno	$y = 25,738x + 2079$	0,9960	100-1500
1-metildibenzotiofeno	$y = 17,819x + 426,03$	0,9931	50-1500
4,6-dimetilbenzotiofeno	$y = 26,076x + 4070,3$	0,9943	250-1500
2,4-dimetildibenzotiofeno	$y = 31,515x + 4411,9$	0,9917	250-1500
1,4-dimetildibenzotiofeno	$y = 68,052x + 7082,8$	0,9908	100-1500
2,4,7- trimetildibenzotiofeno	$y = 39,987x + 7330,9$	0,9678	100-2000
4,6-dietildibenzotiofeno	$y = 29,230x + 242,5$	0,9904	2-100
benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno	$y = 8936,6x + 3210,6$	0,9781	500-2000

O coeficiente de determinação (R^2) é usado para indicar a qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza. O INMETRO (2003)¹²⁰ recomenda como aceitável um valor acima de 0,90. Analisando as equações das curvas analíticas (**Tabela 9**), é possível afirmar que o modelo apresentou boa linearidade com R^2 maior que 0,97 (variando de 0,9678 a 0,9965), o que demonstra que o método fornece resultados diretamente proporcionais à concentração do analito, dentro da faixa avaliada.

4.3.2 Limites de Detecção e de Quantificação

Os valores encontrados para os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) a partir das curvas de calibração de cada composto sulfurado estão descritos na **Tabela 10**.

Tabela 10: Limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) obtidos para os marcadores sulfurados por GC-MS/MS.

Analito	LOD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
benzotiofeno	0,009	0,032
3-metilbenzotiofeno	0,012	0,039
2,3-dimetilbenzotiofeno	0,027	0,090
2,3,4-trimetilbenzotiofeno	0,010	0,033
dibenzotiofeno	0,114	0,380
fenantreno	0,192	0,642
4-metildibenzotiofeno	0,078	0,262
1-metildibenzotiofeno	0,104	0,346
4,6-dimetilbenzotiofeno	0,119	0,398
2,4-dimetilbenzotiofeno	0,144	0,481
1,4-dimetilbenzotiofeno	0,120	0,400
2,4,7-trimetildibenzotiofeno	0,264	0,880
4,6-dietildibenzotiofeno	0,008	0,029
benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno	0,329	1,097

Valores de LOD variaram entre $0,08 \mu\text{g mL}^{-1}$ (ppm) para o 4,6-dietildibenzotiofeno e $0,329 \mu\text{g mL}^{-1}$ para benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno. Os valores do LOQ de $0,029 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o composto 4,6-dietildibenzotiofeno e $1,097 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o benzo[b]nafto[1,2-d]tiofeno (**Tabela 10**).

Os valores obtidos estão abaixo dos encontrados por Mei e colaboradores ¹⁵ ($LOD = 9,9$ ppb; $LOQ = 33,0$ ppb para o DBT) e acima dos descritos em Chiaberge ¹⁴ ($LOD = 0,7$ e $LOQ = 2,4$ ppb para os MDBTs) também obtidos por GC-MS/MS. O que demonstra uma boa sensibilidade do método para análise de marcadores sulfurados. As diferenças encontradas podem ser devido a variações nas condições cromatográficas empregadas como método e equipamento. Vale destacar que em análises convencionais para determinação de sulfurados por GC-MS no modo SIM, não há muitos trabalhos com essa informação.

4.3.3 Determinação das concentrações dos compostos orgânicos sulfurados nas oito amostras de petróleo

Na **Tabela 11** pode-se visualizar os dados referentes a concentração dos compostos marcadores sulfurados nas oito amostras de óleo cru proveniente da Bacia Potiguar por GC-MS/MS (MRM) sem nenhum fracionamento prévio das amostras e que foram diluídas a $0,02 \text{ mg}\cdot\text{uL}^{-1}$ e injetada em triplicata.

Tabela 11 - Concentração dos marcadores sulfurados em $\mu\text{g g}^{-1}$ nas oito amostras de óleo cru da bacia Potiguar por GC-MS/MS (MRM).

Composto	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a							
	P1	RSD%	P2	RSD%	P3	RSD%	P4	RSD%
BT	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
3-MBT	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
2,3-DMBT	<LOQ	-	<LOQ	-	6,96 ± 0,61	1,41	6,21 ± 1,90	1,58
2,3,4-TMBT	16,68 ± 0,04	0,43	14,03 ± 0,02	0,83	14,28 ± 0,07	1,68	11,68 ± 0,06	0,69
DBT	11,81 ± 0,03	0,42	15,91 ± 0,05	0,37	8,46 ± 0,20	0,26	<LOQ	-
Phen	16,01 ± 0,06	0,39	208,26 ± 0,06	0,24	126,56 ± 0,45	4,94	214,90 ± 0,01	1,14
4-MDBT	19,51 ± 0,12	0,81	25,29 ± 0,09	0,16	<LOQ	-	8,25 ± 0,27	0,73
1-MDBT	10,54 ± 0,23	0,77	10,56 ± 0,28	0,98	2,65 ± 0,37	0,37	2,03 ± 0,22	1,20
4,6-DMDBT	47,52 ± 0,12	0,39	59,87 ± 0,05	0,75	20,42 ± 0,13	1,41	24,51 ± 0,09	0,85
2,4-DMDBT	41,27 ± 0,03	1,10	54,77 ± 0,17	1,01	22,26 ± 0,56	0,56	21,75 ± 0,05	0,86
1,4-DMDBT	23,64 ± 0,04	0,74	24,21 ± 0,12	0,21	8,85 ± 0,31	0,98	6,91 ± 0,28	0,88
2,4,7+2,4,8-TMDBT	44,90 ± 0,13	0,87	56,56 ± 0,02	0,88	31,00 ± 0,21	0,84	26,85 ± 0,02	0,65
4,6-DEDBT	ND	-	ND	-	ND	-	ND	-
BNT	74,32 ± 0,03	0,42	95,63 ± 0,61	1,92	91,18 ± 0,04	1,89	60,55 ± 0,07	0,83

^a = Média ± intervalo de confiança (n = 3). ND = não detectado. <LOQ = menor que o limite de quantificação

Continuação da Tabela 11

Composto	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$) ^a							
	P5	RSD%	P6	RSD%	P7	RSD%	P8	RSD%
BT	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-	<LOD	-
3-MBT	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
2,3-DMBT	4,93 ± 0,30	0,51	7,80 ± 0,38	2,79	6,76 ± 0,64	1,20	6,47 ± 0,10	0,78
2,3,4-TMBT	14,45 ± 0,05	0,47	13,67 ± 0,22	2,79	13,63 ± 0,19	0,79	23,12 ± 0,21	0,29
DBT	16,92 ± 0,09	1,10	9,23 ± 0,05	1,11	9,50 ± 0,15	0,49	14,32 ± 0,07	0,60
Phen	232,09 ± 0,01	1,16	139,09 ± 0,01	1,45	109,59 ± 0,02	0,58	151,03 ± 0,10	0,65
4-MDBT	21,24 ± 0,05	0,48	9,70 ± 0,13	2,93	9,41 ± 0,33	0,84	15,01 ± 0,09	0,16
1-MDBT	5,39 ± 0,35	0,59	2,62 ± 0,25	5,65	2,53 ± 0,39	0,99	5,16 ± 0,12	0,82
4,6-DMDBT	46,29 ± 0,07	0,07	30,02 ± 0,06	3,40	<LOQ	-	32,42 ± 0,04	0,60
2,4-DMDBT	41,23 ± 0,04	0,20	24,58 ± 0,14	2,58	21,76 ± 0,62	0,49	27,40 ± 0,24	0,44
1,4-DMDBT	16,15 ± 0,09	0,45	8,48 ± 0,11	1,83	8,24 ± 0,05	0,27	27,48 ± 0,04	0,79
2,4,7+2,4,8-TMDBT	38,69 ± 0,04	0,25	30,24 ± 0,23	1,86	26,98 ± 0,36	1,26	28,58 ± 0,11	0,75
4,6-DEDBT	ND	-	ND	-	ND	-	ND	-
BNT	56,11 ± 0,05	1,27	77,93 ± 0,57	2,14	68,38 ± 0,03	0,17	41,70 ± 0,05	1,67

^a = Média ± intervalo de confiança (n = 3). ND = não detectado. <LOQ = menor que o limite de quantificação

Dos padrões incluídos no mix de calibração, o BT, 3-MBT e 4,6-DEDBT não foram quantificados em nenhuma das amostras. Entre os marcadores sulfurados, os que apresentaram maiores concentrações foram o benzonaftotiofeno ($95,63 \mu\text{g g}^{-1}$) e 4,6-DMDBT ($59,87 \mu\text{g g}^{-1}$) para amostra P2. Todos os compostos quantificados tiveram a avaliação da precisão feita empregando o desvio padrão relativo RSD (%) que também é conhecido como coeficiente de variação (CV) com valores bastante abaixo do recomendado, que segundo a ANVISA deve ser menor que 20% ⁷².

Mei e colaboradores ¹⁵ avaliaram quatro tipos de óleos crus por GC-MS/MS, também por injeção sem prévio fracionamento da amostra e concentração máxima para o 4,6-DMDBT de $913,3 \mu\text{g g}^{-1}$, o BNT não foi avaliado. Chiaberge *et al.*¹⁴ quantificaram os isômeros MDBTs por GC-MS/MS e as concentrações variam de 1,5 a 224,5 ppm. Neste presente trabalho as concentrações dos MDBTs variaram entre 2,03 a $25,29 \mu\text{g g}^{-1}$.

Fan Pu *et al* ¹²² empregaram uma análise semi-quantitativa e encontraram um valor de 4,7 % de BNT em amostra de óleo cru de origem terrestre, eles usaram GC-MS no modo SIM, após etapa de fracionamento da amostra por cromatografia em coluna aberta.

Entre os marcadores avaliados, os mais estudados na literatura são os isômeros C1-DBT, em que o 4-MDBT apresentou maiores concentrações frente ao 1-MDBT nas amostras estudadas. Estudos realizados por Asif e colaboradores ¹²³ utilizando GC-MS, encontraram valores para o 4-MDBT variando de 0,20 a $20,91 \mu\text{g g}^{-1}$ e para o 1-MDBT variando de 0,03 a $8,52 \mu\text{g g}^{-1}$ sendo que a amostra passou por etapa de fracionamento usando cromatografia em coluna empacotada com sílica gel, aumentando assim o número de etapas com preparo de amostra, além de riscos de perda de compostos através de manipulação.

O método proposto neste estudo para a quantificação dos marcadores orgânicos sulfurados, apresenta maior simplicidade de execução, sem a necessidade de longas etapas de preparo e fracionamento, devido as características instrumentais GC-MS/MS, conforme já discutido.

Do ponto de vista geoquímico, os compostos sulfurados, conforme já relatado, são empregados para obter diferentes informações, como por exemplo, ambiente

deposicional, nível de maturidade termal e grau de biodegradação através de suas razões diagnósticas, conforme será discutido no próximo item.

4.4 RAZÕES DIAGNÓSTICAS BASEADAS EM MARCADORES SULFURADOS EMPREGADAS PARA AVALIAÇÃO GEOQUÍMICA

A partir da análise quantitativa e interpretação dos cromatogramas das oito amostras de petróleo da bacia Potiguar, determinou-se as razões diagnósticas baseadas em BT, DBT e seus alquilados para a caracterização geoquímica quanto a origem em relação ao ambiente sedimentar da rocha geradora, maturação térmica e nível de biodegradação. Essas razões foram calculadas com base na concentração individual ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos analitos alvo (**Tabela 11**), com exceção do 2+3-MDBT, que devido à falta de padrão, empregou-se o cálculo usando a área dos picos.

Os resultados das razões estão na **Tabela 12** e permitem avaliar o ambiente deposicional, nível de evolução térmica, como também o grau de biodegradação das amostras de petróleo.

TABELA 12: Razões diagnósticas para os marcadores sulfurados avaliados presentes nas oito amostras de petróleo da bacia Potiguar.

Nº	Razões	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
1	4-MDBT/1-MDBT	1,85	2,39	-	4,06	3,94	3,70	3,72	2,91
2	2,4/1,4-DMDBT	1,75	2,26	2,51	3,15	2,55	2,90	2,64	1,00
3	4,6/1,4-DMDBT	2,01	2,47	2,31	3,55	2,87	3,54	2,16	0,28
4*	2+3-MDBT/1-MDBT	1,02	2,11	2,43	4,26	2,68	3,73	4,19	1,93
5	1-MDBT/DBT	0,89	0,66	0,31	-	0,32	0,28	0,26	0,36
6	4-MDBT/DBT	1,65	1,59	-	-	1,26	1,05	0,99	1,05
7	1-MDBT/4-MDBT	0,54	0,42	-	0,25	0,25	0,27	0,27	0,34
8	DBT/Phen	0,74	0,08	0,07	-	0,07	0,07	0,09	0,09
9*	2+3-MDBT/ 4-MDBT	0,33	0,53	0,77	0,64	0,47	0,66	0,72	0,48
10	4-MDBT/Phen	1,22	0,12	-	0,04	1,01	0,07	0,09	0,10

* razões diagnósticas obtidas com base na área de pico.

Os dados da **Tabela 12** serão discutidos de acordo com o parâmetro indicador geoquímico, nos itens que seguem.

4.4.1 Parâmetros indicadores de ambiente deposicional

Através do emprego de razões baseadas nos marcadores sulfurados pertencentes a classe dos DBTs, é possível caracterizar o ambiente deposicional das amostras de óleo cru em estudo. É importante ressaltar que não foram realizadas outras análises como de biomarcadores saturados e cíclicos e que os dados obtidos foram comparados com resultados das mesmas amostras, publicados por Alves *et al.*¹¹¹.

A razão diagnóstica (8) DBT/Phen é empregada para avaliar litologia de rocha-geradora³⁷, valores > 1 são característicos de rochas geradoras ricas em carbonatos (calcilutitos) e razões < 1, de rochas siliciclásticas (folhelhos). Para as amostras da Bacia Potiguar, todos os valores foram inferiores a 0,74 (**Tabela 12**), sugerindo que os óleos crus foram gerados a partir de folhelhos. Cai *et al.*³⁵ também obtiveram valores semelhantes ao avaliar amostras de óleos crus na Bacia de Tarim, China.

Um outro parâmetro bastante empregado na literatura, baseado em marcadores sulfurados, é o comportamento dos isômeros individuais dos MDBTs. Segundo Hughes *et al.*¹²⁴, é possível diferenciar duas tendências no padrão de distribuição dos MDBTs: uma chamada de “perfil V” ($4\text{MDBT} > 2+3\text{MDBT} < 1\text{MDBT}$), característico de petróleos de rocha geradora carbonática, porém Schou e Myhr¹¹³ sugerem que esse comportamento caracteriza mais o caráter pouco evoluído das amostras e a outra tendência com o perfil decrescente (1 metil- > 2+3-metil- > 4-metil-DBT) que indica ambiente deposicional da rocha geradora com aporte siliciclástico ou com grau de maturidade avançada^{31, 113}. O perfil de comportamento das oito amostras pode ser visualizado na **Figura 22**.

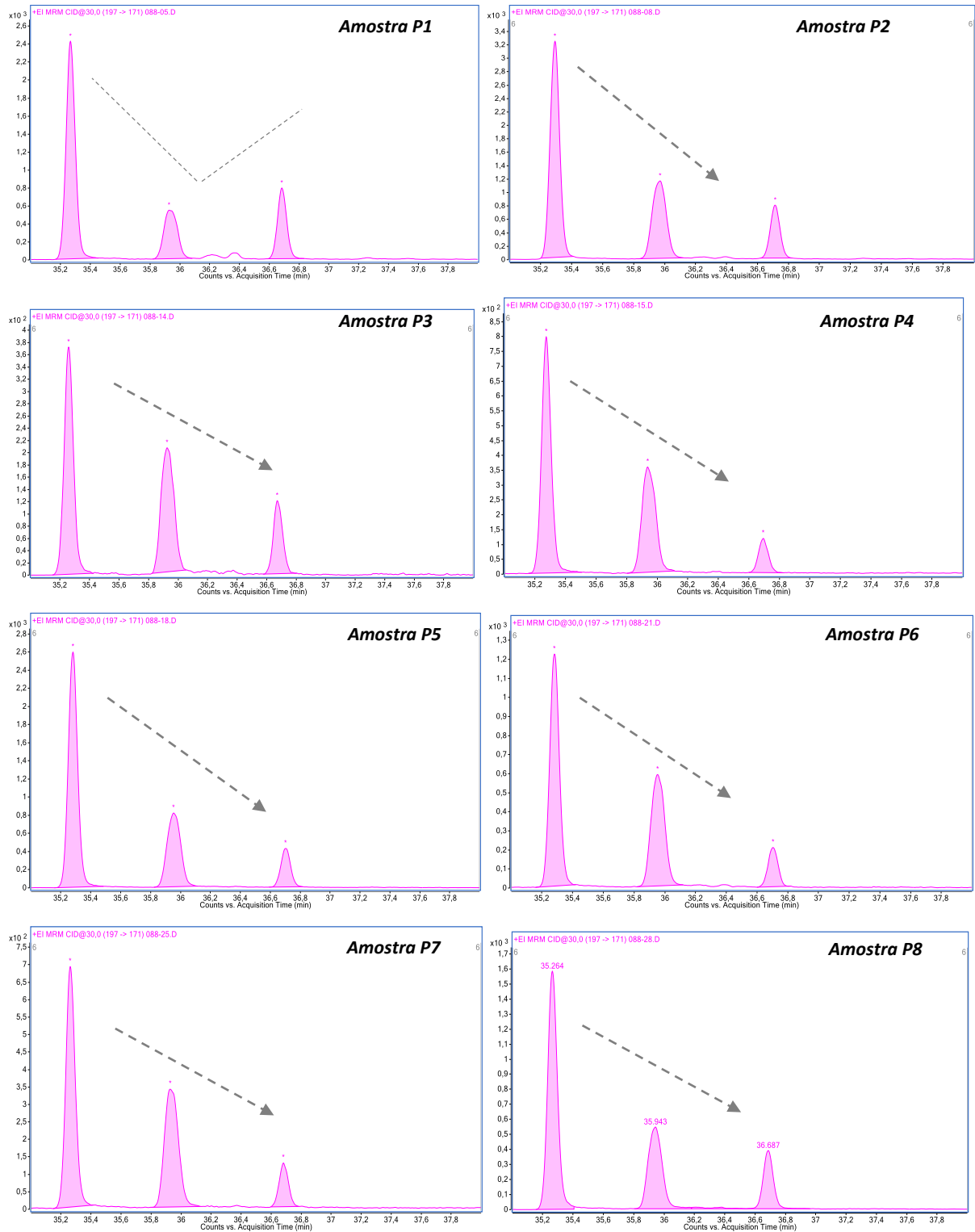


Figura 22: Representação do perfil cromatográfico das oito amostras para os isômeros do metildibenzotiofeno.

De acordo com a **Figura 22**, a amostra P1 apresenta perfil de óleo cru de rocha geradora carbonática e as demais (P2-P8), perfil siliciclástico, característico para as amostras com maior grau de evolução térmica (padrão 4-MDBT>2+3MDBT>1-MDBT). Porém, segundo Alves *et al.* ¹¹¹, esta amostra (P1) representa o petróleo mais biodegradado dentre as amostras estudadas, o que pode ter afetado os resultados dos MDBT.

A razão DBT/Phen em conjunto com a razão pristano/fitano (Pr/Ph) também é outro parâmetro usado para avaliar o ambiente deposicional ^{37, 40}. Onde DBT/Phen > 1 e Pr/Ph < 1 indicam óleo de origem marinha não siliciclástica (podendo ser carbonática mista). DBT/Phen entre 1 e 3 e Pr/Ph < 1, o óleo é de origem marinha e lacustre e DBT/Phen < 0,5 e Pr/Ph > 1 o óleo é de origem siliciclástica lacustre ^{37, 124}. Para avaliar esse parâmetro, optou-se por comparar os valores de DBT/Phen calculados, com os valores da razão Pr/Ph da amostra P1 a P8 informados no trabalho de Alves e colaboradores ¹¹¹, conforme **Tabela 13**.

Tabela 13: Parâmetros de razões diagnósticas indicativas de ambiente deposicional das rochas geradoras dos petróleos avaliados

Amostra	DBT/Phen	Pr/Ph*	Ambiente
P1	> 0,5	< 1,0 (0,97)	marinho não siliciclastico/carbonático misto
P2	< 0,5	> 1 (1,23)	siliciclastico
P3	< 0,5	> 1 (1,95)	marinho/ siliciclástico lacustre
P4	< 0,5	> 1 (2,10)	marinho/ siliciclástico lacustre
P5	< 0,5	> 1 (1,36)	siliciclastico
P6	< 0,5	> 1(1,87)	marinho/ siliciclástico lacustre
P7	< 0,5	> 1 (2,30)	marinho/ siliciclástico lacustre
P8	< 0,5	> 1(1,20)	siliciclastico lacustre

* razão pristano fitano obtida de Alves et al.¹¹¹ (valores entre parênteses)

Com base nas informações da **Tabela 13**, pode-se afirmar que as amostras P2, P3, P4, P5, P6, P7 e P8 são oriundas de rocha geradora siliciclástica lacustres, caracterizada por apresentar razão DBT/Phen $< 0,5$ e razão Pr/Ph > 1 ³⁷. Já a amostra P1 é classificada como não siliciclástica, têm relações DBT/Phen $> 0,5$ e relações Pr/Ph < 1 . Isso inclui óleos derivados de carbonato marinho e rochas marinhas de fontes mistas. No caso da amostra 1, a razão não é confiável porque conforme relatado por Alves *et al.*¹¹¹ a amostra é muito biodegradada.

Segundo Hughes *et al.* ¹²⁴, o isômero 4-MDBT predomina em relação aos demais MDBTs em petróleos derivados de rochas siliciclásticas. O mesmo comportamento foi observado para as amostras P1, P2, P5 e P8 (**Figura 23**). Entretanto, ao comparar o estudo de Hughes *et al.* ¹²⁴ com a avaliação baseada em DBT/Phen e Pr/Ph para esse mesmo parâmetro, a amostra P1, não indica fonte siliciclástica e as amostras P3, P4, P6 e P7, não parecem ter sido caracterizadas como de petróleo originado por rocha geradora siliciclástica. Essas discrepâncias podem ser justificadas pelo nível de biodegradação das amostras.

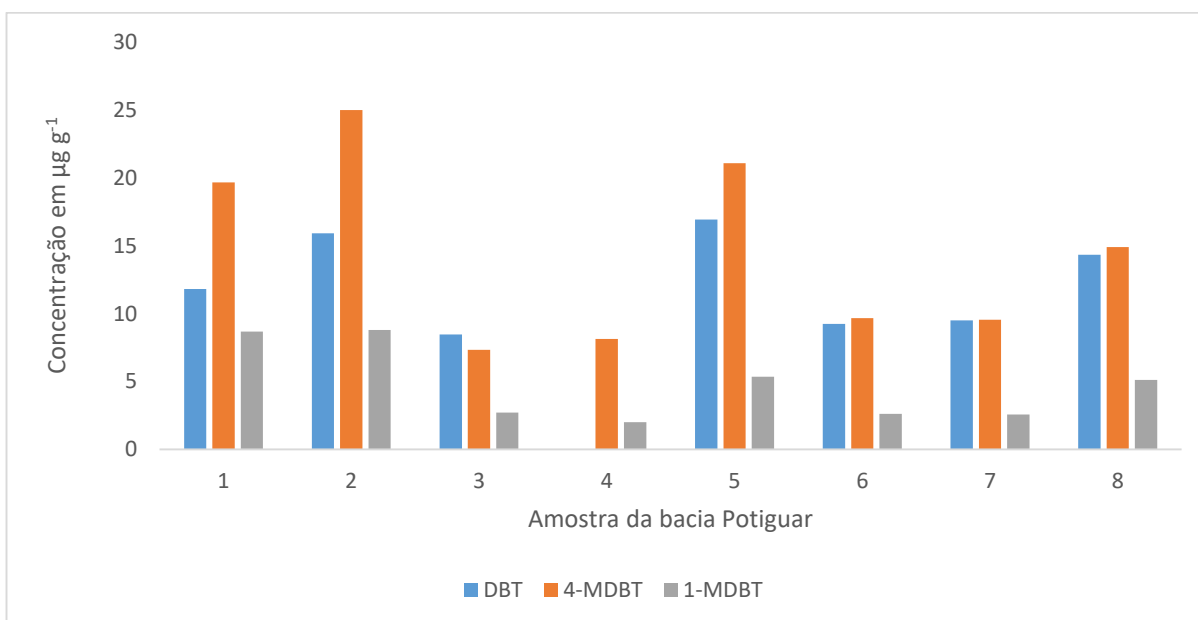


Figura 23: Concentrações dos isômeros DBT e C1- DBT presente nas oito amostras da bacia Potiguar.

Com relação a DBT/Phen, de acordo com a discussão acima, os óleos que têm razões DBT/Phen mais altas, geralmente deveriam ter um teor de S_{total} mais alto. Contudo, a relação entre o teor de enxofre e a razão DBT/Phen é mais complexa que uma simples correspondência individual. Óleos com maior teor de enxofre não apresentam as maiores taxas de DBT/Phen, pois nesses casos, relativamente mais enxofre está presente como sulfetos em vez de tiofenos ³¹. O alto valor das concentrações do fenantreno, faz com que a razão DBT/Phen apresentem valores muito abaixo de 0,5 com exceção da amostra de petróleo P1 (biodegradada).

Os DBTs estão presentes em concentrações maiores em petróleos gerados por rocha geradora carbonática marinha e rochas ricas em sulfato lacustre em comparação com óleos de folhelhos lacustres deltaicos ou ambientes de água doce ^{25, 59, 124}. De acordo com essas informações pode-se dizer que as amostras P1, P2, P5 e P8 representam petróleos originados a partir de matéria orgânica marinha carbonática e as amostras P3, P4, P6 e P7, seriam de origem lacustre (**Tabela 11**, obtido pela soma dos DBTs). A disparidade nos dados que indicam geradora carbonática ou siliciclástica é justificado pelo fato de ela não ser uma nem outra, ou seja, não são nem folhelhos nem calcilutitos ¹¹¹.

Alves e colaboradores ¹¹¹ empregaram razões baseadas em biomarcadores para caracterizar o ambiente deposicional. As amostras P1, P2, P5 e P8 foram caracterizadas como petróleo oriundo de rocha geradora de origem marinha. As amostras P3, P4, P6 e P7 são característicos de rocha geradora depositada em ambiente lacustre. Ao comparar com os parâmetros avaliados, comportamento semelhante foi observado no presente estudo.

4.4.2 Parâmetros indicadores de evolução térmica

Entre as razões diagnósticas descritas na **Tabela 12**, as indicadas em (1), (2), (3), (4), (5), e (6) são aplicadas em geoquímica orgânica para inferir evolução térmica (maturidade), baseadas nas distribuições dos isômeros metil- e dimetil-DBT e em parâmetros de estabilidade dos compostos orgânicos sulfurados ⁴⁹.

As razões (1) 4-MDBT/1-MDBT e (4) 2-+3-MDBT/1-MDBT são empregadas para indicar maturidade térmica e estão relacionadas a estabilidade dos isômeros. O isômero “ α ” (1-MDBT) é menos estável em comparação ao “ β ” (4-MDBT) ⁹ e aos outros isômeros, logo ocorre o aumento da maturidade quanto maior for o valor das razões ⁶ ^{8, 31}. Para as amostras em estudo, os valores variaram de 2,39 para a amostra P2 a 4,06 para a amostra P4 (**Tabela 12**). Valores de razão < 1, indicam imaturidade, de 2,5 a 15,4 (maturo) acima de 15,4 (muito maturo) ⁴⁴. Com base nessa informação, todos os pontos, podem ser considerados como óleos com grau de maturidade.

Segundo Hegazi *et al.* ³¹ e Hughes ¹²⁴, a evolução térmica pode ser avaliada pela diminuição do isômero 1-MDBT em relação aos isômeros 2+3-MDBT e 4-MDBT. Ao observar a **Figura 23** e **Tabela 11**, pode-se constatar que todas as amostras, exceto a P1 (mais biodegradada), apresentaram menores valores de 1-MDBT, o que está de acordo com os dados da literatura e também com o trabalho de Alves *et al.* ¹¹¹ que relataram que as oito amostras têm nível semelhante de maturidade.

Vale destacar que baixas concentrações de BT e altas concentrações de MDBTs caracterizam óleos supermaturos ¹²⁵, o que também está de acordo com os dados obtidos no presente estudo (**Tabela 11**), entretanto, as concentrações apresentadas no presente trabalho são para os compostos selecionados e não representam a soma de todos os BTs e DBTs que possam estar presentes.

Outras duas razões, referentes aos dimetildibenzotiofenos: (2) 2,4-/1,4-DMDBT e (3) 4,6-/1,4-DMDBT (**Tabela 12**), também são utilizadas como parâmetro de maturidade ³². De acordo com os valores da entalpia da formação dos DMDBTs, a estabilidade do 1,4-DMDBT é semelhante à do 2,4-DMDBT, que é muito menor que o 4,6-DMDBT ¹²⁶. Com o aumento da maturidade, as razões 4,6-DMDBT/1,4-DMDBT devem ser elevadas devido ao aumento na quantidade de isômeros termicamente estáveis ²⁵.

Para a 2,4-/1,4-DMDBT os valores variaram de 1,00 (amostra P8) a 3,15 (amostra P4) e para a 4,6-/1,4-DMDBT de 0,28 (amostra P8) a 3,55 (amostra P4). A distribuição para essas duas razões pode ser visualizada na **Figura 24**.

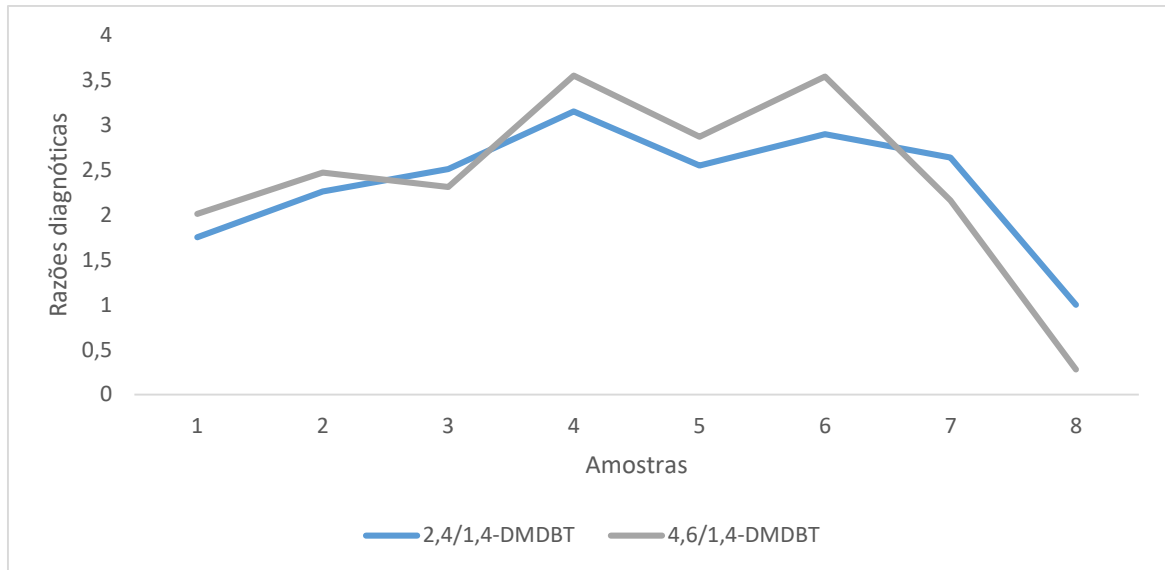


Figura 24: Gráfico das razões diagnósticas 2,4/1,4-DMDBT e 4,6/1,4-DMDBT empregadas para indicar maturidade térmica no óleo bruto da bacia Potiguar.

Através da **Figura 24** é possível verificar que as duas razões diagnósticas tiveram mesmo comportamento, com exceção da P3 e P7.

Ao correlacionar os valores da razão (1) com 2,4-/1,4-DMDBT (**Figura 25**) com 4,6-/1,4-DMDBT (**Figura 26**), é possível observar que as amostras P4, P5, P6 e P7 apresentam maior maturidade térmica. A amostra P2 possui maturação intermediária e a amostras P1 e P8 possuem valores discrepantes, nas quais se observam valores relativamente maiores da razão 4-/1-MDBT e baixos valores da razão 2,4-/1,4DMDBT e 4,6-/1,4-DMDBT (P8), para amostra P3 o LOQ (**Tabela 10**) ficou abaixo do obtido para a razão (1) não sendo possível correlacioná-la. Comportamento oposto é observado para P1, atribuído a possível alteração da composição química da amostra armazenada em laboratório com o passar do tempo.

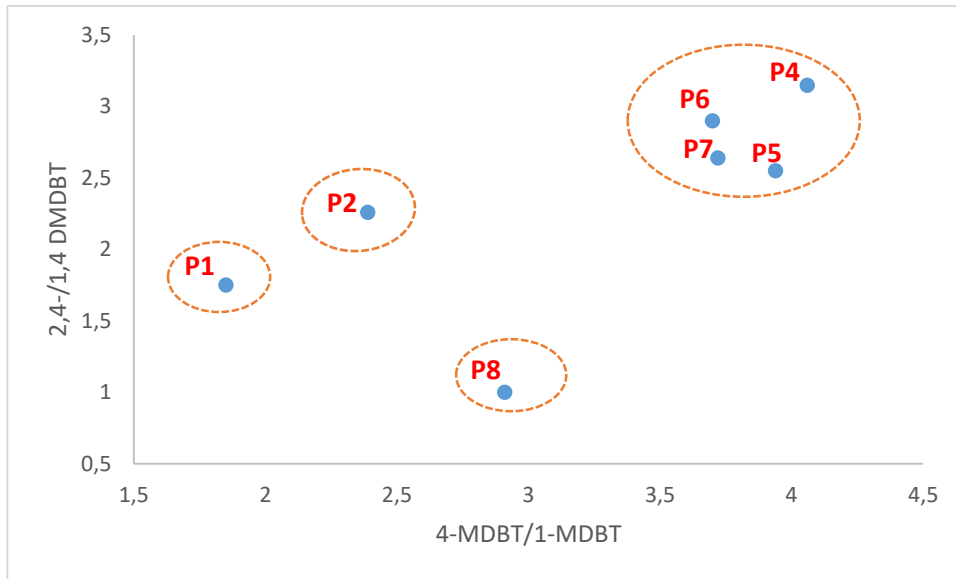


Figura 25: Gráfico da correlação entre as razões diagnósticas 2,4-/1,4-DMDBT e 4-MDBT/1-MDBT empregadas para indicar maturidade no óleo bruto da bacia Potiguar

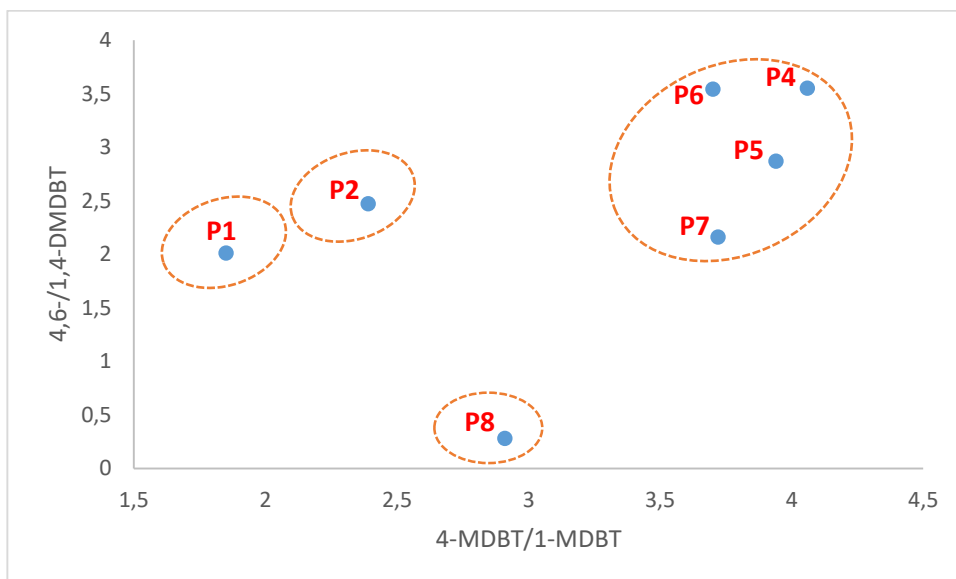


Figura 26: Gráfico da correlação entre as razões diagnóstica 4,6-/1,4-DMDBT e 4-MDBT/1-MDBT empregadas para indicar maturidade no óleo bruto da bacia Potiguar.

Ainda, a razão (6) 4-MDBT/DBT, **Tabela 12** diminui à medida que o petróleo é extraído em uma profundidade maior ¹¹³. Diante do exposto, há indícios de que as amostras P3 e P4 foram extraídas em um nível mais profundo enquanto a amostra P1 em uma profundidade menor.

Alves e colaboradores ¹¹¹ ao avaliar o mesmo conjunto de oito amostras, empregaram razões de biomarcadores terpanos pentacíclicos (T_s/T_{s+T_m}), estereoisômeros $C_{29}(S/(S+R))$, $C_{29}(C_{29} \alpha\alpha\alpha$ e $\alpha\beta\beta/\alpha\beta\beta+\alpha\alpha\alpha)$ para avaliar a maturidade. Os valores para T_s/T_{s+T_m} indicaram que as amostras foram geradas a partir de uma maturação correspondente ao início da janela de geração de petróleo. Por outro lado, as razões de $C_{29} S/S+R$ e $\alpha\beta\beta/\alpha\beta\beta+\alpha\alpha\alpha$ apresentaram valores de pico de janela de geração de petróleo. Segundo os autores, os resultados confirmam que todos os petróleos são oriundos de rochas geradoras que passaram por processos de maturidade térmica semelhantes, exceção registrada para o petróleo P1, com características de óleo biodegradado após sua acumulação no reservatório.

Ao comparar os dois estudos, o presente e o de Alves *et al.*¹¹¹, os parâmetros para os marcadores sulfurados que apareceram como fornecedores de informações mais coerentes com respeito ao conhecido nestas amostras para maturação são as razões: (2) e (3) pois observa-se que os resultados são concordantes. A amostra P1 também apresentou comportamento distinto ao avaliar os parâmetros de ambiente deposicional, maturidade térmica, quando relacionada com as razões (1), (2) e (3).

4.4.3 Parâmetros indicadores de biodegradação

A biodegradação é a alteração seletiva de determinados tipos de compostos por bactérias presentes no reservatório. Ocorre, normalmente, em reservatórios localizados em áreas onde houve contato com águas meteóricas. Essas águas meteóricas carregam certos micro-organismos aos reservatórios juntamente com oxigênio e nutrientes ¹²⁷.

Na literatura, vários trabalhos Bao e Zhu ¹²⁸ relatam que a razão DBT/Phen aumenta com a elevação do grau de biodegradação, assim, pode-se inferir que o petróleo da amostra P1 é a mais biodegradada, o que está em total acordo com o trabalho de Alves e colaboradores ¹¹¹.

As razões diagnósticas (6) 4-MDBT/DBT, (7) 1-MDBT/4-MDBT e (8) 2+3-MDBT/4-MDBT (**Tabela 12**) também são empregadas para indicar biodegradação do petróleo. A biodegradação seletiva dos MDBTs ocorre porque os isômeros com substituintes metila na posição β (2-MDBT e 3-MDBT) são facilmente degradados ⁵³. Assim, o aumento das razões (6) e (7) e a diminuição da razão (8), indicam aumento da biodegradação do petróleo. Ao avaliar os valores obtidos, descritos na **Tabela 12**, observa-se que a amostra P1 é que apresenta o maior grau de biodegradação, confirmando o mesmo resultado obtido pela razão DBT/Phen e de Alves *et al.* ¹¹¹.

O comportamento individual, baseado nas concentrações absolutas dos MDBTs é também bastante empregado, sendo que a ordem de suscetibilidade à biodegradação (do mais suscetível para o menos) é 2-MDBT + 3-MDBT > 1-MDBT > 4-MDBT ⁵², que está relacionada com a posição dos isômeros, conforme descrito no parágrafo anterior.

De forma geral, os MDBTs são mais suscetíveis à biodegradação do que DMDBTs, observa-se uma sequência consistente de alteração de DBT, MDBTs e DMDBTs com aumento do nível de biodegradação nas amostras de petróleo ⁵³. Na **Figura 27** é possível observar o comportamento das amostras avaliadas neste estudo.

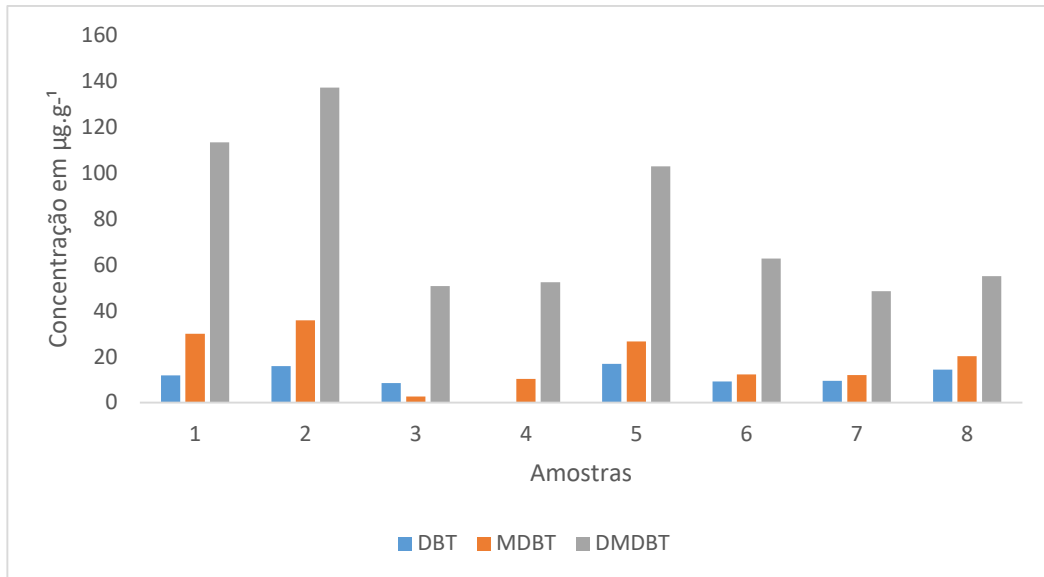


Figura 27: Concentrações dos isômeros DBT, C1- DBT e C2-DBT presentes nas oito amostras da bacia Potiguar.

Conforme descrito anteriormente, as diferenças encontradas entre os dados obtidos no presente trabalho e os descritos por Alves *et al.*¹¹¹ provavelmente se devem aos diferentes parâmetros avaliados, bem como das condições da amostra, avaliadas em períodos diferentes. Entretanto, serviu como um parâmetro de comparação já que este é o primeiro trabalho que avalia marcadores sulfurados em amostras de petróleo brasileiro.

5 CONCLUSÕES

Este é o primeiro trabalho que apresenta um estudo detalhado de marcadores sulfurados em amostra de petróleo empregando GC-MS/MS no modo SIM e MRM. Verificou-se um grande avanço analítico quando esta matriz foi avaliada empregando o modo MRM.

Na análise por GC-MS/MS no modo SIM, coeluições entre OSC e entre estes e interferentes da matriz que apresentam o mesmo valor m/z (*PAHs*) demonstrou a possibilidade de falsos positivos e de superestimação de OSC em análises quantitativas. Apesar do modo SIM ser seletivo, ele não elimina compostos sem enxofre que também produzem o íon característico e são registrados, podendo interferir na detecção seletiva desejada.

O emprego da GC-MS/MS no modo MRM para análise de marcadores sulfurados em petróleo elimina a etapa de fracionamento, o que implica em economia de tempo de análise, solventes e também na minimização da possibilidade de contaminação da amostra e perda de analitos durante o processo analítico.

O uso da GC-MS/MS no modo MRM permitiu a quantificação de OSC marcadores (classes BT, DBT e BNT) sem qualquer outro tipo de separação prévia dos compostos da matriz, apresentou alta relação sinal ruído, sensibilidade e seletividade, indicando a aplicabilidade da técnica para baixas concentrações presentes neste tipo de amostra. O método tem um baixo limite de detecção (menor do que $0,082 \mu\text{g mL}^{-1}$) e limite de quantificação menor do que $0,0292 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A separação, identificação e quantificação dos OSC empregados como marcadores em estudos geoquímicos de petróleo através da GC-MS/MS no modo MRM, forneceu informações sobre o ambiente deposicional, maturidade e biodegradação nas oito amostras avaliadas. Para o ambiente deposicional, a razão DBT/Phen relacionada com a razão Pr/Ph e a soma das concentrações dos MDBTs presentes no petróleo foram avaliadas e constatou-se que as amostras P1, P2, P5 e P8 são de origem marinha carbonática enquanto as amostras P3, P4, P6 e P7 são de origem lacustres. Quanto ao nível de maturação, através das razões 4-MDBT/1-MDBT, 4,6-DMDBT e 2,4-DMDBT constatou-se que para as amostras P4, P5, P6 e

P7 apresentam maior grau de maturidade, a amostra P2 maturidade intermediária enquanto as amostras de petróleo P1 e P8 apresentaram valores discrepantes, provavelmente devido ao grau de biodegradação. A amostra P3 apresentou para o 4-MDBT um valor inferior ao LOQ não sendo possível sua avaliação através da razão 4-MDBT/1-MDBT. Finalmente, quanto ao nível de biodegradação, as razões 4-MDBT/DBT, 1-MDBT/4-MDBT e 2+3-MDBT/4-MDBT indicaram que amostra P1 é a que apresenta o maior nível de biodegradação dentre as oito amostras estudadas.

Sugere-se que em futuros trabalhos, as análises para determinação de biomarcadores geoquímicos tradicionais, sejam realizadas em conjuntos com as análises dos marcadores sulfurados.

Este trabalho pode levar também a aplicação da GC-MS/MS no modo MRM a outras amostras de petróleo, avaliação de outros marcadores de OSC ou ainda, avaliação conjunta com classes de biomarcadores em estudos geoquímicos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Speight, J. G.; *The chemistry and technology of petroleum*. Fifth edit. (2014).
2. Han, Y., Zhang, Y., Xu, C. & Hsu, C. S.; "Molecular characterization of sulfur-containing compounds in petroleum". *Fuel* **221**, 144–158 (2018).
3. Beens, J. & Tijssen, R.; "The Characterization and Quantitation of Sulfur-Containing Compounds in (Heavy) Middle Distillates by LC-GC-FID-SCD". *HRC J. High Resolut. Chromatogr.* **20**, 131–137 (1997).
4. Machado, M. E.; "Determinação de compostos orgânicos sulfurados em carvão e petróleo por cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente". *Tese* (2011).
5. Fallis, A. "Análise Do Refino No Brasil: Estado e Perspectivas - Uma Análise "Cross-Section". *J. Chem. Inf. Model.* **53**, nº9, pp. 1689–1699 (2013).
6. Radke, M. "Application of aromatic compounds as maturity indicators in source rocks and crude oils". *Mar. Pet. Geol.* **5**, 224–236 (1987).
7. Simoneit, B. R. T. "A review of current applications of mass spectrometry for biomarker/molecular tracer elucidations". *Mass Spectrom. Rev.* **24**, 719–765 (2005).
8. Radke, M., Welte, D. H. & Willsch, H.; "Maturity parameters based on aromatic hydrocarbons: Influence of the organic matter type". *Org. Geochem.* **10**, 51–63 (1986).
9. Yang, S. *et al.* "Thermodynamic stability of methyldibenzothiophenes in sedimentary rock extracts: Based on molecular simulation and geochemical data". *Org. Geochem.* **129**, 24–41 (2019).
10. Hegazi, A. H. & Andersson, J. T.; "Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles as Source Diagnostics of Petroleum Pollutants in the Marine Environment. Standard Handbook Oil Spill Environmental Forensics: Fingerprinting and Source Identification: *Second Edition* (Elsevier Inc., 2016). doi:10.1016/B978-0-12-809659-8.00006-1.

11. Hegazi, A. H. & Andersson, J. T.; "Limitations to GC-MS determination of sulfur-containing polycyclic aromatic compounds in geochemical, petroleum, and environmental investigations". *Energy and Fuels* **21**, 3375–3384 (2007).
12. Sørensen, L., Meier, S. & Mjøs, S. A.; "Application of gas chromatography/tandem mass spectrometry to determine a wide range of petrogenic alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in biotic samples". *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **30**, 2052–2058 (2016).
13. Adhikari, P. L., Wong, R. L. & Overton, E. B.; "Application of enhanced gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry for monitoring petroleum weathering and forensic source fingerprinting in samples impacted by the Deepwater Horizon oil spill". *Chemosphere* **184**, 939–950 (2017).
14. Chiaberge, S., Fiorani, T. & Cesti, P. "Methyldibenzothiophene isomer ratio in crude oils: Gas chromatography tandem mass spectrometry analysis". *Fuel Process. Technol.* **92**, 2196–2201 (2011).
15. Mei, M., Bissada, K. K., Malloy, T. B., Darnell, L. M. & Szymczyk, E. B. "Improved method for simultaneous determination of saturated and aromatic biomarkers, organosulfur compounds and diamondoids in crude oils by GC-MS/MS". *Org. Geochem.* **116**, 35–50 (2018).
16. Franchina, F. A. *et al.* "Determination of aromatic sulphur compounds in heavy gas oil by using (low-)flow modulated comprehensive two-dimensional gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry". *J. Chromatogr. A*, **1387**, 86–94 (2015).
17. Tissot, B. P. . W. D. H. *Petroleum Formation and Occurrence.* (1984).
18. Killops, S., Killops, V. J. *An Introduction to Organic Geochemistry.* (United Kingdom, Blackweell Science, 2005).
19. Heckmann, J. R., Gonçalves, F. T. T., Pereira, R. & Azevedo, D. de A. A. "Avaliação Geoquímica de Óleos Brasileiros com Ênfase nos Hidrocarbonetos Aromáticos". *Quim. Nova* **34**, 1328–1333 (2011).
20. Santos, T. L. dos. Caracterização de Óleo do Golfo do México por Parâmetros

- Geoquímicos. *Diss. Mestr.* 1–90 (2017).
21. K.E. Peters, C.C. Walters, J. M. M. "*The Biomarker guide*". *Cambridge University Press*, **1**, (2005).
 22. Zhao, J. *et al.* "Petroleum accumulation: from the continuous to discontinuous". *Pet. Res.* **2**, 131–145 (2017).
 23. Niyonsaba, E., Manheim, J. M., Yerabolu, R. & Kenttämäa, H. I. "Recent Advances in Petroleum Analysis by Mass Spectrometry". *Anal. Chem.* **91**, 156–177 (2019).
 24. Meijun, L. *et al.* "Oil maturity assessment using maturity indicators based on methylated dibenzothiophenes". *Pet.Sci.* **11**, 234–246 (2014).
 25. Li, M., Wang, T., Shi, S., Liu, K. & Ellis, G. S. "Benzo [b] naphthothiophenes and alkyl dibenzothiophenes : Molecular tracers for oil migration distances". *Mar. Pet. Geol.* **57**, 403–417 (2014).
 26. Fang, R. *et al.* "Dibenzothiophenes and benzo [b] naphthothiophenes : Molecular markers for tracing oil filling pathways in the carbonate reservoir of the Tarim". *Org. Geochem.* **91**, 68–80 (2016).
 27. Robinson, P. R. *Handbook of industrial chemistry and biotechnology*. (Springer, 2017).
 28. Alves, L., Mesquita, E. & Gírio, F. M. "Dessulfurização Bacteriana de Combustíveis Fósseis". *Bol. Biotecnol.* **62**, 1–8 (1999).
 29. K.E. Peters, C.C. Walters, J. M. M. *The Biomarker guide*. *Journal of Chemical Information and Modeling* vol. 53 (2005).
 30. Mössner, S. G., Lopez De Alda, M. J., Sander, L. C., Lee, M. L. & Wise, S. A. "Gas chromatographic retention behavior of polycyclic aromatic sulfur heterocyclic compounds, (dibenzothiophene, naphtho[b]thiophenes, benzo[b]naphthothiophenes and alkyl-substituted derivatives) on stationary phases of different selectivity". *J. Chromatogr. A*, **841**, 207–228 (1999).
 31. Hegazi, A. H., Andersson, J. T. & El-Gayar, M. S.; "Application of gas

- chromatography with atomic emission detection to the geochemical investigation of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in Egyptian crude oils". *Fuel Process. Technol.* **85**, 1–19 (2003).
32. Chakhmakhchev, A., Suzuki, M. & Takayama, K. "Distribution of alkylated dibenzothiophenes in petroleum as a tool for maturity assessments". *Org. Geochem.* **26**, 483–490 (1997).
 33. Santamaría-Orozco, D., Horsfield, B., Di Primio, R. & Welte, D. H. "Influence of maturity on distributions of benzo- and dibenzothiophenes in Tithonian source rocks and crude oils", Sonda de Campeche, Mexico. *Org. Geochem.*, **28**, 423–439 (1998).
 34. Nady, M. M. El & Harb, F. M.; "Significance of Aromatic Hydrocarbons in Recognizing Source Depositional Environments and Maturation of Some Egyptian Crude Oils". *Energy Sources*, **31**, 773–782 (2009).
 35. Cai, C. *et al.* "Origins of Palaeozoic oils in the Tarim Basin: Evidence from sulfur isotopes and biomarkers". *Chem. Geol.* **268**, 197–210 (2009).
 36. Galarraga, F. *et al.* "Main factors controlling the compositional variability of seepage oils from trujillo state, western venezuela". *J. Pet. Geol.* **33**, 255–267 (2010).
 37. Hughes, W. B., Holba, A. G. & Dzou, L. I. P.; "The ratios of dibenzothiophene to phenanthrene and pristane to phytane as indicators of depositional environment and lithology of petroleum source rocks". *Geochim. Cosmochim. Acta* **59**, 3581–3598 (1995).
 38. Radke, M., Vriend, S. P. & Ramanampisoa, L. R.; "Alkyldibenzofurans in terrestrial rocks: Influence of organic facies and maturation". *Geochim. Cosmochim. Acta*, **64**, 275–286 (2000).
 39. Sivan, P., Datta, G. C. & Singh, R. R.; "Aromatic biomarkers as indicators of source, depositional environment, maturity and secondary migration in the oils of Cambay Basin, India". *Org. Geochem.* **39**, 1620–1630 (2008).
 40. Barakat, A. O., Mostafa, A. R., El-Gayar, M. S. & Omar, M. F.; "Significance of

- thiophenic compounds distribution in correlating crude oils into source related types". *Pet. Sci. Technol.* **35**, 1888–1895 (2017).
41. Requejo, A. G. . *et al.* "Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) as indicators of the source and maturity of marine crude oils". *Org. Geochem.* **24**, 1017–1038 (1996).
 42. Chakhmakhchev, A. & Suzuki, N.; "Saturate biomarkers and aromatic sulfur compounds in oils and condensates from different source rock lithologies of Kazakhstan, Japan and Russia". *Org. Geochem.* **23**, 289–299 (1995).
 43. Wang, T., He, F., Li, M., Hou, Y. & Guo, S. "Alkyldibenzothiophenes: Molecular tracers for filling pathway in oil reservoirs". *Chinese Sci. Bull.* **49**, 2399–2404 (2004).
 44. Chakhmakhchev, A. & Suzuki, N.; "Aromatic sulfur compounds as maturity indicators for petroleums from the Buzuluk depression, Russia". *Org. Geochem.* **23**, 617–625 (1995).
 45. Connan, J., Bouroullec, J., Dessort, D. & Albrecht, P.; "The microbial input in carbonate-anhydrite facies of a sabkha palaeoenvironment from Guatemala: A molecular approach". *Org. Geochem.* **10**, 29–50 (1986).
 46. Kruge, M. A., Gallego, J. L. R., Lara-Gonzalo, A. & Esquinas, N.; "Environmental Forensics Study of Crude Oil and Petroleum Product Spills in Coastal and Oilfield Settings: Combined Insights From Conventional GC-MS, Thermodesorption-GC-MS, and Pyrolysis-GC-MS". *Oil Spill Environ. Forensics Case Stud.* 131–155 (2018).
 47. Andersson, J. T. & Sielex, K.; "Dimethylbenzothiophenes and Methylbenzothiophenes in Crude Oils from Different Sources". *HRC J. High Resolut. Chromatogr.* **19**, 49–53 (1996).
 48. Yang, B., Hou, W., Zhang, K. & Wang, X.; "Application of solid-phase microextraction to the determination of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in Bohai Sea crude oils". *J. Sep. Sci.* **36**, 2646–2655 (2013).
 49. Li, M., Zhong, N., Shi, S., Zhu, L. & Tang, Y.; "The origin of

- trimethyldibenzothiophenes and their application as maturity indicators in sediments from the Liaohe Basin, East China". *Fuel* **103**, 299–307 (2013).
50. Gao, X. *et al.* "Gas purge microsyringe extraction coupled to comprehensive two-dimensional gas chromatography for the characterization of petroleum migration". *Org. Geochem.* **106**, 30–47 (2017).
 51. Radke, M. & Willsch, H.; "Extractable alkyldibenzothiophenes in Posidonia Shale (Toarcian) source rocks: Relationship of yields to petroleum formation and expulsion". *Geochim. Cosmochim. Acta* **58**, 5223–5244 (1994).
 52. Wang, X. *et al.* "Surfactin for enhanced removal of aromatic hydrocarbons during biodegradation of crude oil". *Fuel* **267**, 117272 (2020).
 53. Cheng, X., Hou, D., Mao, R. & Xu, C.; "Severe biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in reservoir crude oils from the Miaoxi Depression, Bohai Bay Basin". *Fuel* **211**, 859–867 (2018).
 54. Bissada, K. K. A. *et al.* "Group-type characterization of crude oil and bitumen. Part I: Enhanced separation and quantification of saturates, aromatics, resins and asphaltenes (SARA)". *Org. Geochem.* **95**, 21–28 (2016).
 55. Mo, S. G. & Wise, S. A.; "Determination of Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles in Fossil Fuel-Related Samples". *Anal. Chem.* **71**, 58–69 (1999).
 56. Hegazi, A. H., Andersson, J. T., Abu-Elgheit, M. A. & El-Gayar, M. S.; "Source diagnostic and weathering indicators of tar balls utilizing acyclic, polycyclic and S-heterocyclic components". *Chemosphere* **55**, 1053–1065 (2004).
 57. Andersson, J. T. & Schmid, B.; "Polycyclic aromatic sulfur heterocycles IV. Determination of polycyclic aromatic compounds in a shale oil with the atomic emission detector". *J. Chromatogr. A* **693**, 325–338 (1995).
 58. Stout, S. A., Uhler, A. D. & McCarthy, K. J.; "A Strategy and Methodology for Defensibly Correlating Spilled Oil to Source Candidates". *Environ. Forensics.* **2**, 87–98 (2001).
 59. Pu, F., Philip, R. P., Zhenxi, L. & Guangguo, Y.; "Geochemical characteristics of aromatic hydrocarbons of crude oils and source rocks from different sedimentary

- environments". *Org. Geochem.* **16**, 427–435 (1990).
60. Jinggui, L., Philp, P., Zifang, M., Wenhui, L. & Jianjing, Z.; "Aromatic compounds in crude oils and source rocks and their application to oil – source rock correlations in the Tarim basin , NW China". *J. Asian Earth Sci.* **25**, 251–268 (2005).
 61. Li, Y. *et al.*; "Effects of weathering process on the stable carbon isotope compositions of polycyclic aromatic hydrocarbons of fuel oils and crude oils". *Mar. Pollut. Bull.* **133**, 852–860 (2018).
 62. Wang, Z. & Fingas, M.; "Use of Methyldibenzothophenes as Markers for Differentiation and Source Identification of Crude and Weathered Oils". *Environ. Sci. Technol.* **29**, 2842–2849 (1995).
 63. Wu, J. *et al.*; "Isolation and characterization of sulfur compounds in a lacustrine crude oil". *Fuel.* **253**, 1482–1489 (2019).
 64. Vérkey, K.; "Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography". *J. Chromatogr. A* **921**, 227–236 (2001).
 65. Skoog, D. A. . *et al.*; *Fundamentos de Química Analítica*. (Cegage Learning, 2014).
 66. Chiaradia, M. C., Collins, C. H. & Jardim, I. C. S. F.; "O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos". *Quim. Nova.* **31**, 623–636 (2008).
 67. Skoog, D. A. *et al.*; *Princípios de Análise Instrumental*. (Porto Alegre, 2009).
 68. Mastovska, K. & Lehotay, S. J.; "Practical approaches to fast gas chromatography–mass". *J. Chromatogr. A* **1000**, 153–180 (2003).
 69. Andersson, J. T., Hegazi, A. H. & Roberz, B.; "Polycyclic aromatic sulfur heterocycles as information carriers in environmental studies". *Anal. Bioanal. Chem.* **386**, 891–905 (2006).
 70. Machado, M. E., Caramão, E. B. & Zini, C. A. "Investigation of sulphur

- compounds in coal tar using monodimensional and comprehensive two-dimensional gas chromatography". *J. Chromatogr. A* **1218**, 3200–3207 (2011).
71. Fang, R. *et al.* "Trimethyldibenzothiophenes: Molecular tracers for filling pathways in oil reservoir". *J. Pet. Sci. Eng.* **159**, 451–460 (2017).
 72. Beatriz, C., Bottoli, G., Collins, C. H., Sales, C. & Jardim, F.; "Validacao em métodos cromatograficos e eletroforeticos". *Quim. Nova* **27**, 771–780 (2004).
 73. Zeigler, C., Schantz, M., Wise, S. & Robbat, A.; "Mass Spectra and Retention Indexes for Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles and Some Alkylated Analogs". *Polycycl. Aromat. Compd.* **32**, 154–176 (2012).
 74. Elena E. Stashenko, J. R. M.; "La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas como herramienta de alta selectividad para caracterizar fósiles químicos en el petróleo". *Sci. Chromatogr.* **4**, 44–57 (2012).
 75. Martel, S. *Método Multirresíduo para agrotóxicos e compostos relacionados em ar empregando trapeamento em sorvente polimérico e GC-MS/MS.* (2013).
 76. Ardrey, R. E. . *LIQUID CHROMATOGRAPHY– MASS SPECTROMETRY: AN INTRODUCTION.* John Wiley & Sons, Ltd. vol. 104 (2003).
 77. Neto, A. J. dos S. https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2154526/mod_resource/content/0/MS%20-%20reduzido.pdf. 1–24 (2016).
 78. Stashenko, E.E.; Martínez, J. R.; "GC-MS: Más de un Analisador de Masas, ¿ para que?" *Sci. Chromatogr.* **2**, 25–48 (2010).
 79. Cho, J., Lee, J., Lim, C. U. & Ahn, J.; "Quantification of pesticides in food crops using QuEChERS approaches and GC-MS/MS". *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **33**, 1803–1816 (2016).
 80. Singh, V. P. & Singh, A.; *Pesticides in Crop Production. Pesticides in Crop Production* (2020). doi:10.1002/9781119432241.
 81. Feng, C. *et al.* "Comprehensive strategy for analysis of pesticide multi-residues in food by GC–MS/MS and UPLC-Q-Orbitrap". *Food Chem.* **320**, 126576 (2020).
 82. Lee, J. *et al.* "Rapid and Simultaneous Analysis of 360 Pesticides in Brown Rice,

- Spinach, Orange, and Potato Using Microbore GC-MS/MS". *J. Agric. Food Chem.* **65**, 3387–3395 (2017).
83. Steinborn, A. *et al.*; "Determination of Glyphosate Levels in Breast Milk Samples from Germany by LC-MS/MS and GC-MS/MS". *J. Agric. Food Chem.* **64**, 1414–1421 (2016).
84. Mead, R. N. *et al.* "A static headspace GC-MS/MS method for the determination of ethanol, iso-butanol, and n-butanol at nanomolar concentrations in aqueous environmental samples". *Limnol. Oceanogr. Methods* **15**, 1007–1014 (2017).
85. Hernández, F., Cervera, M. I., Portolés, T., Beltrán, J. & Pitarch, E.; "The role of GC-MS/MS with triple quadrupole in pesticide residue analysis in food and the environment". *Anal. Methods* **5**, 5875–5894 (2013).
86. Corcellas, C., Eljarrat, E. & Barceló, D.; "Determination of pyrethroid insecticides in environmental samples by GC-MS and GC-MS-MS". *Compr. Anal. Chem.* **61**, 203–230 (2013).
87. Shang, D., Kim, M. & Haberl, M.; "Rapid and sensitive method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils using pseudo multiple reaction monitoring gas chromatography/tandem mass spectrometry". *J. Chromatogr. A* **1334**, 118–125 (2014).
88. Haleyur, N. *et al.* "Comparison of rapid solvent extraction systems for the GC-MS/MS characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in aged, contaminated soil". *MethodsX*. **3**, 364–370 (2016).
89. John, G. F., Yin, F., Mulabagal, V., Hayworth, J. S. & Clement, T. P.; "Development and application of an analytical method using gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry for characterizing alkylated chrysenes in crude oil samples". *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **28**, 948–956 (2014).
90. Fernández-González, V., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P. & Prada-Rodríguez, D.; "Development of a programmed temperature vaporization-gas chromatography-tandem mass spectrometry method for polycyclic aromatic hydrocarbons analysis in biota samples at ultratrace levels". *J. Chromatogr. A*

- 1207**, 136–145 (2008).
91. Zhao, B. *et al.* "Characterization and quantification of PAH atmospheric pollution from a large petrochemical complex in Guangzhou: GC-MS/MS analysis". *Microchem. J.* **119**, 140–144 (2015).
 92. Yan, J. *et al.*; "Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water using simplified liquid-liquid micro-extraction and pseudo-MRM GC/MS/MS". *Anal. Methods* **10**, 405–416 (2018).
 93. Guart, A., Calabuig, I., Lacorte, S. & Borrell, A.; "Continental bottled water assessment by stir bar sorptive extraction followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry (SBSE-GC-MS/MS)". *Environ. Sci. Pollut. Res.* **21**, 2846–2855 (2014).
 94. Crini, N., Druart, C., Amiot, C., Gavaille, S. & Crini, G.; "Discharge waters: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) levels by a GC-MS/MS method". *Environ. Eng. Manag. J.* **14**, 1195–1202 (2015).
 95. Rozentale, I., Zacs, D., Perkons, I. & Bartkevics, V.; "A comparison of gas chromatography coupled to tandem quadrupole mass spectrometry and high-resolution sector mass spectrometry for sensitive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in cereal products". *Food Chem.* **221**, 1291–1297 (2017).
 96. Philp, R. P., Oung, J. & Lewis, C. A.; "Biomarker determinations in crude oils using a triple-stage quadrupole mass spectrometer". *J. Chromatogr. A* **446**, 3–16 (1988).
 97. Philp, R. P., Oung, J. N., Yu, C. P. & Lewis, S.; "The determination of biomarker distributions by tandem mass spectrometry". *Org. Geochem.* **16**, 1211–1220 (1990).
 98. Wei, Z. *et al.*; "Diamondoid hydrocarbons as a molecular proxy for thermal maturity and oil cracking: Geochemical models from hydrous pyrolysis". *Org. Geochem.* **38**, 227–249 (2007).
 99. Amo, M. *et al.*; "A biomarker and isotopic study of the source rock organofacies,

- oil families, source-oil correlation and thermal maturity of Cenomanian petroleum systems in the offshore Abu Dhabi". *Soc. Pet. Eng. - Abu Dhabi Int. Pet. Exhib. Conf. 2018, ADIPEC 2018* (2019) doi:10.2118/192671-ms.
100. Mei, M., Bissada, K. K. (Adry), Malloy, T. B., Darnell, L. M. & Liu, Z. "Origin of condensates and natural gases in the Almond Formation reservoirs in southwestern Wyoming, USA". *Org. Geochem.* **124**, 164–179 (2018).
 101. Park, G. *et al.*; "A rapid gas chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of 50 PAHs for application in a marine environment". *Anal. Methods* **10**, 5559–5570 (2018).
 102. Liang, Q., Xiong, Y., Fang, C. & Li, Y.; "Quantitative analysis of diamondoids in crude oils using gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry". *Org. Geochem.* **43**, 83–91 (2012).
 103. Portella, A. Y. P. & Fabianovicz, R. Bacia Potiguar - Sumário Geológico e Setores em Oferta Superintendência. *Superintendência de Definição de Blocos SDB* 1–21 (2017).
 104. Técnico, S.; Metodologia Analisador Elementar 043 Enxofre em Solos, Sedimentos, Folhas e Oleo. 1–4 (2017).
 105. BRASIL, M. da S. RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. *Diário Of. [da] República Fed. do Bras.* 22 (2017).
 106. Bajja, S. C., Singh, R. J., Bajja, B. & Kumar, S.; "Determination of sulfur content in petroleum products—an overview". *J. Sulfur Chem.* **38**, 450–464 (2017).
 107. López, L. & Lo Mónaco, S.; "Vanadium, nickel and sulfur in crude oils and source rocks and their relationship with biomarkers: Implications for the origin of crude oils in Venezuelan basins". *Org. Geochem.* **104**, 53–68 (2017).
 108. Antunes, A. M. de S. *Setores da Indústria Química Orgânica.* (2007).
 109. Alkhalili, B. E., Yahya, A., Abraham, N. & Ganapathy, B.; "Biodesulfurization of Sour Crude Oil". *Mod. Appl. Sci.* **11**, 104 (2017).

110. Ke, C. *et al.*; "Compound specific sulfur isotopes of saline lacustrine oils from the Dongpu Depression, Bohai Bay Basin, NE China". *J. Asian Earth Sci.* **195**, 104361 (2020).
111. Alves, J. C. A., *et al.* "Correlações Geoquímicas Entre Amostras de Petróleo da Bacia Potiguar e Definição de suas Possíveis Rochas Geradoras". *Quim. Nova* **41**, 417–428 (2018).
112. Gross, J. H. *Mass spectrometry: a text book*. (Springer Nature, 2017).
113. Schou, L. & Myhr, M. B.; "Sulfur aromatic compounds as maturity parameters". *Adv. Org. Geochemistry* **13**, 61–66 (1987).
114. Han, Y., Yin, F., John, G. F. & Clement, T. P.; "Understanding the relative performance of SCAN, SIM, PMRM and MRM methods for quantifying polycyclic aromatic hydrocarbons in crude oil samples". *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 1–12 (2020) doi:10.1002/rcm.8765.
115. HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*. (LTC, 2012).
116. Washington: National Institute of Standards and Technology, U. & Department of Commerce. NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY-NIST. 2020 (2007).
117. Machado, M. E. *et al.*; "Comparison between pre-fractionation and fractionation process of heavy gas oil for determination of sulfur compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography". *J. Chromatogr. A* **1274**, 165–172 (2013).
118. Guy A. Depauw, G. F. F.; "Molecular analysis of the sulphur components in a light cycle oil of a catalytic cracking unit by gas chromatography with mass spectrometric and atomic emission detection". **761**, 231–247 (1997).
119. Nawala, J., Czupryński, K., Popiel, S., Dziedzic, D. & Bełdowski, J.; "Development of the HS-SPME-GC-MS/MS method for analysis of chemical warfare agent and their degradation products in environmental samples". *Anal. Chim. Acta* **933**, 103–116 (2016).
120. Químicos, O. Sobre validação de métodos de ensaios. INMETRO (INSTITUTO

NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL). *inmetro* 1–36 (2003).

121. Damas, E. Y. C. *et al.*; "Validation of an analytical methodology for the quantitative analysis of petroleum hydrocarbons in marine sediment samples". *Quim. Nova* **32**, 855–860 (2009).
122. Fan, P., Philp, R. P., Li, Z., Yu, X. & Ying, G.; "Biomarker distributions in crude oils and source rocks from different sedimentary environments". *Chem. Geol.* **93**, 61–78 (1991).
123. Asif, M., Alexander, R., Fazeelat, T. & Pierce, K.; "Geosynthesis of dibenzothiophene and alkyl dibenzothiophenes in crude oils and sediments by carbon catalysis". *Org. Geochem.* **40**, 895–901 (2009).
124. Hughes, W. B.; "*Use of thiophenic organosulfur compounds in characterizing crude oils derived from carbonate versus siliclastic sources, Petroleum Geochemistry and Source Rock Potential of Carbonate Rocks.* (1984).
125. Hegazi, A. H., Fathalla, E. M. & Andersson, J. T.; "Weathering trend characterization of medium-molecular weight polycyclic aromatic disulfur heterocycles by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry". *Chemosphere* **111**, 266–271 (2014).
126. Richard, L.; "Calculation of the standard molal thermodynamic properties as a function of temperature and pressure of some geochemically important organic sulfur compounds". *Geochim. Cosmochim. Acta* **65**, 3827–3877 (2001).
127. Azevedo, D. de A., Silva, T. F. da S. & Silva, D. B.; "Avaliação geoquímica de biomarcadores ocluídos em estruturas asfálticas". *Quim. Nova* **32**, 1770–1776 (2009).
128. Bao, J. P. & Zhu, C. S.; "The effects of biodegradation on the compositions of aromatic hydrocarbons and maturity indicators in biodegraded oils from Liaohe Basin". *Sci. China, Ser. D Earth Sci.* **52**, 59–68 (2009).

7. PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA

7.1 Resumos em eventos

1. Participação no XV Latim American Congress on Organic Geochemistry (XV ALAGO) **2018**, Salvador, Bahia.

2. XVII Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XVII) **2019**, Aracaju, Sergipe.

Fabio, X.A.S.; Jaqueline F.C.Teles, Karina S. Garcia, Antonio F.S. Queiroz, Maria E. Machado. Determination of organosulfur biomarkers in oil from source rocks of paraná basing by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry.

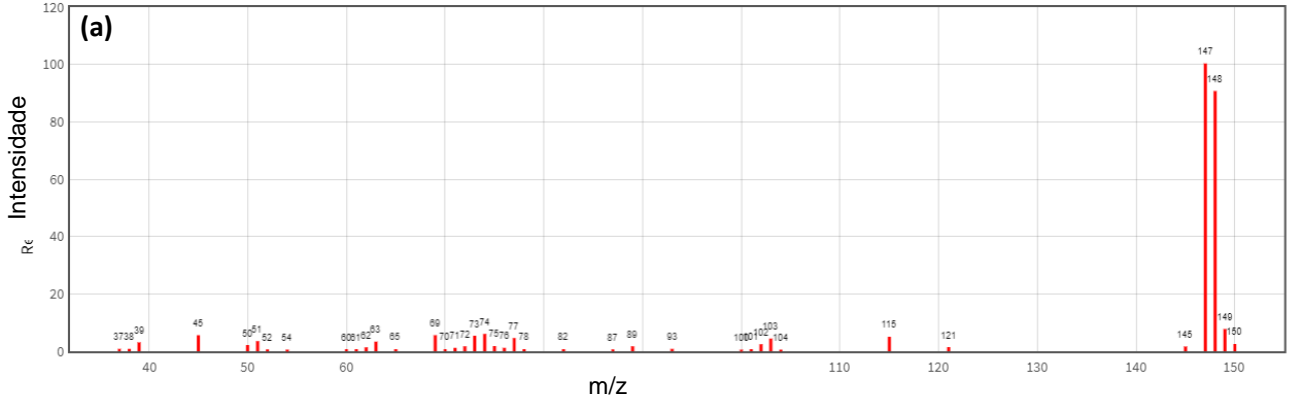
3. I CONGRESSO VIRTUAL UFBA **2020**, Salvador, Bahia

Fábio Xavier Antunes Sampaio, Karina Santos Garcia, Olívia M.C de Oliveira, Antonio Fernando de Souza Queiroz, Maria Elisabete Machado. Otimização de metodologia analítica para determinação de marcadores orgânicos sulfurados em petróleo por GC-MS/MS

8. ANEXO

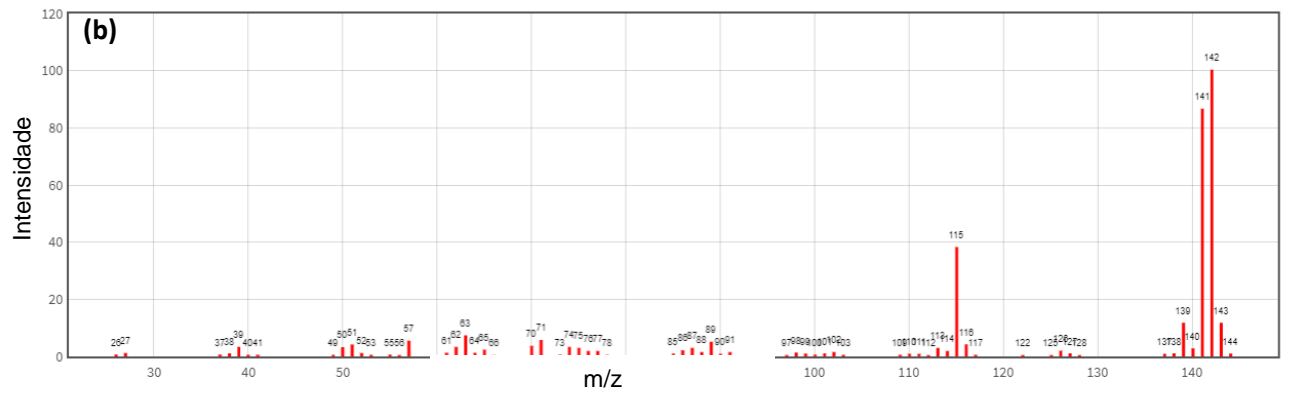
3-Methylbenzothiophene

Mass Spectrum



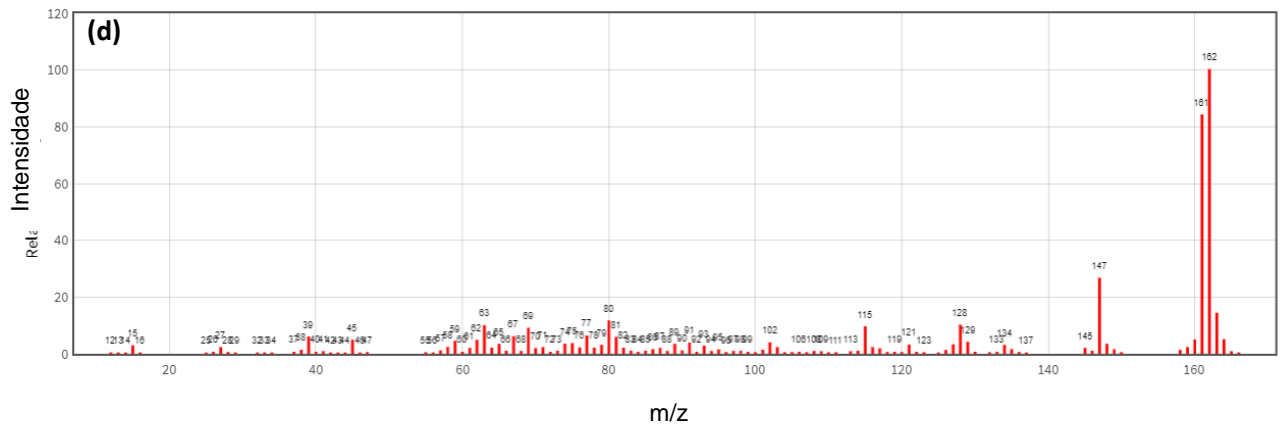
Naphthalene, 1-methyl-

Mass Spectrum



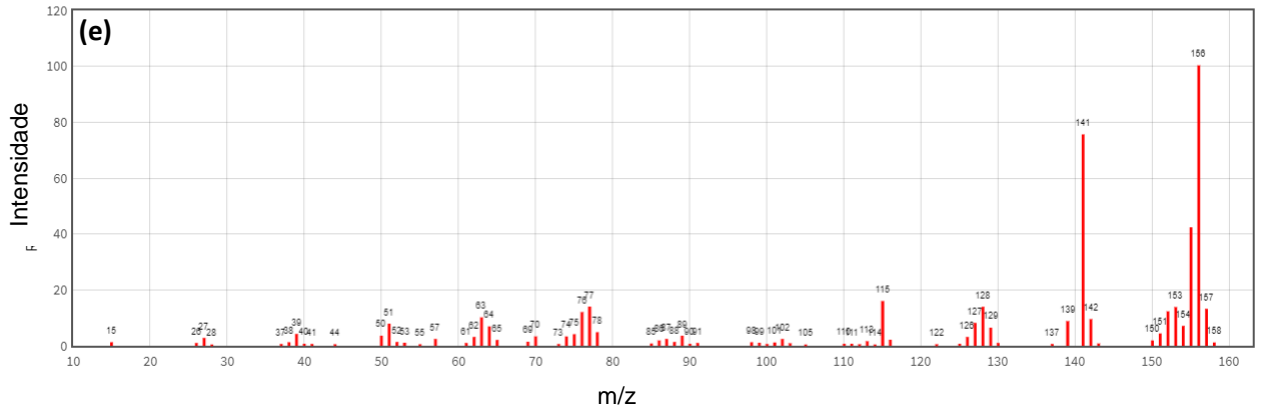
Benzo[b]thiophene, 2,7-dimethyl-

Mass Spectrum



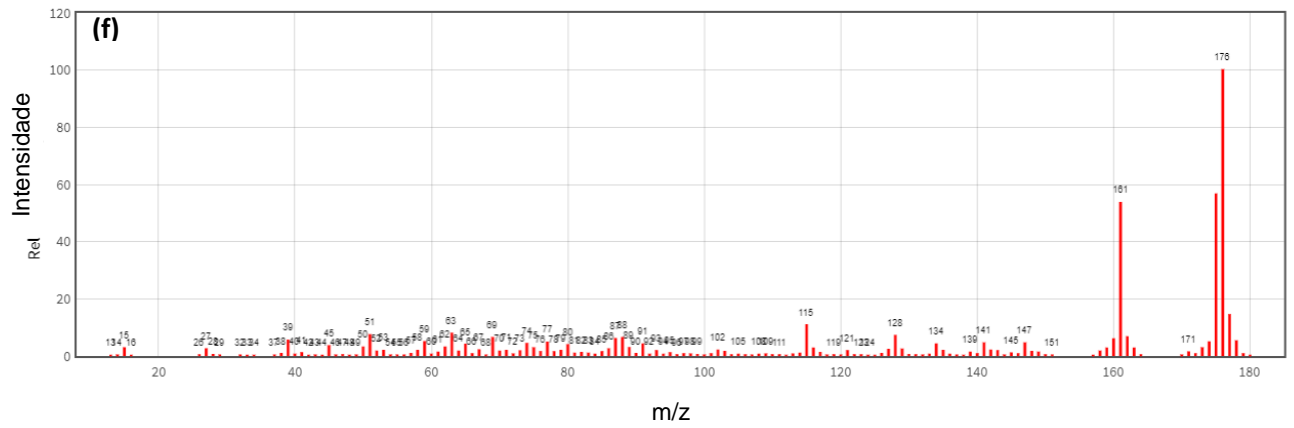
Naphthalene, 2,6-dimethyl-

Mass Spectrum



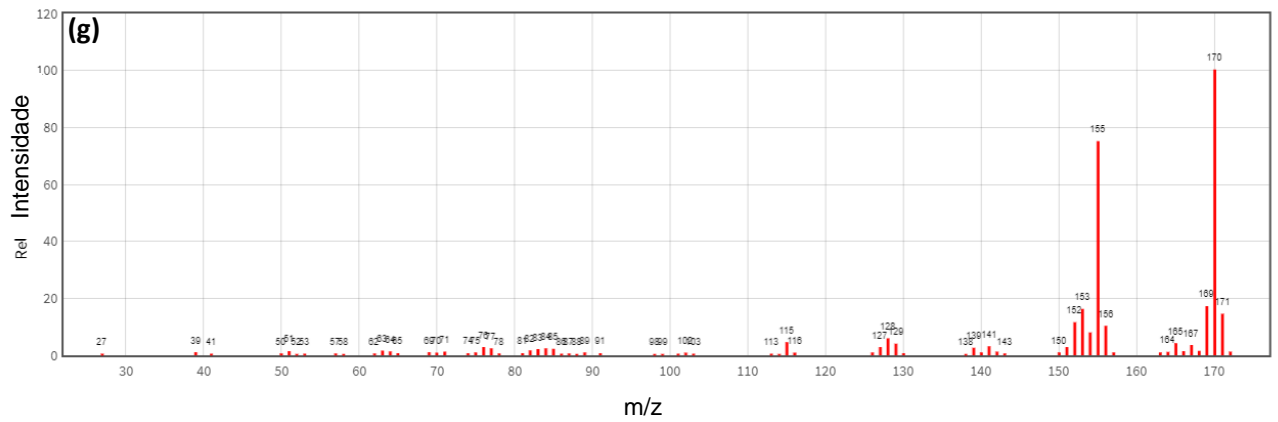
Benzo[b]thiophene, 2,5,7-trimethyl-

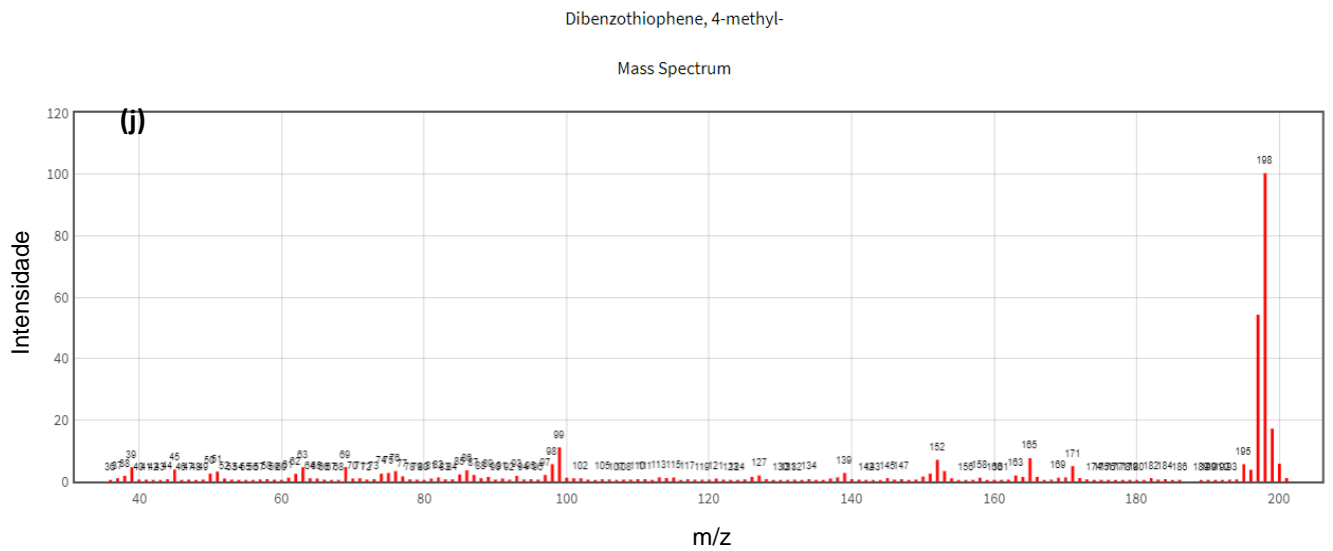
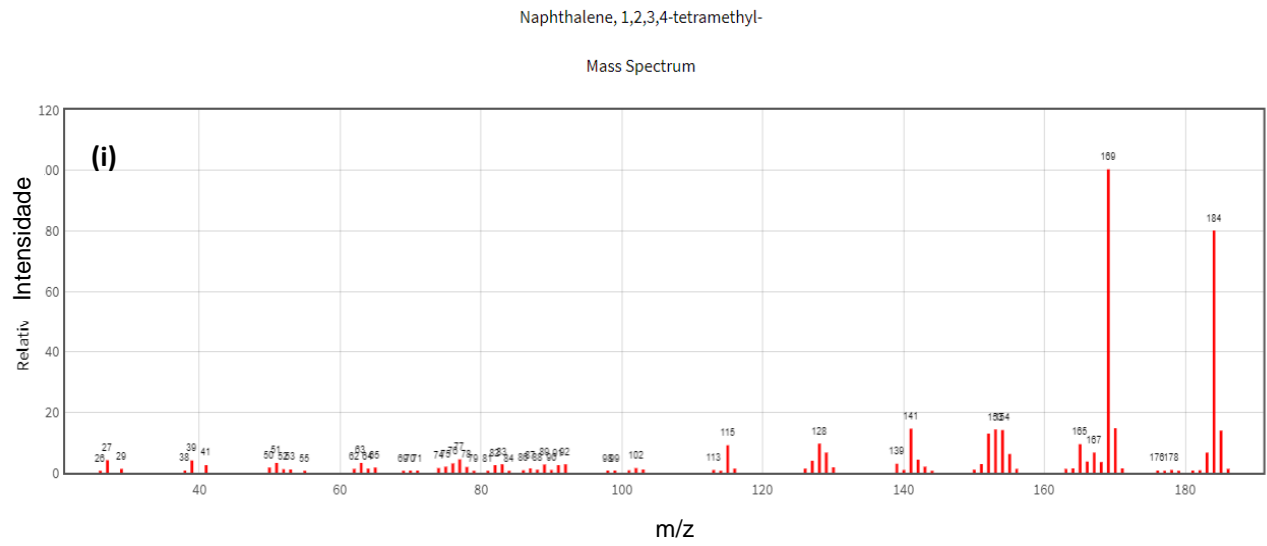
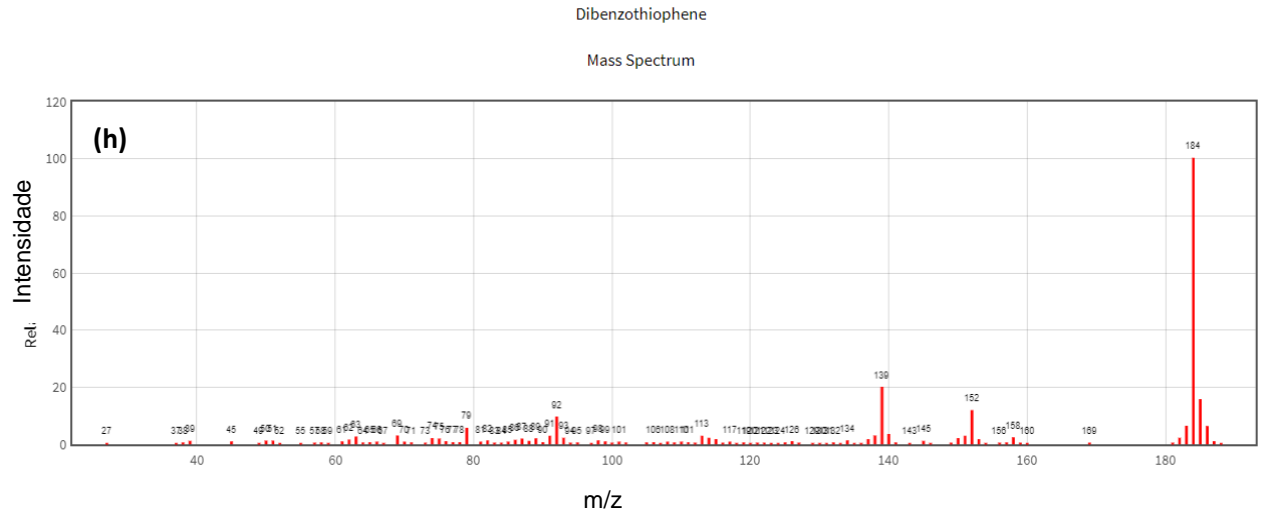
Mass Spectrum



Naphthalene, 1,6,7-trimethyl-

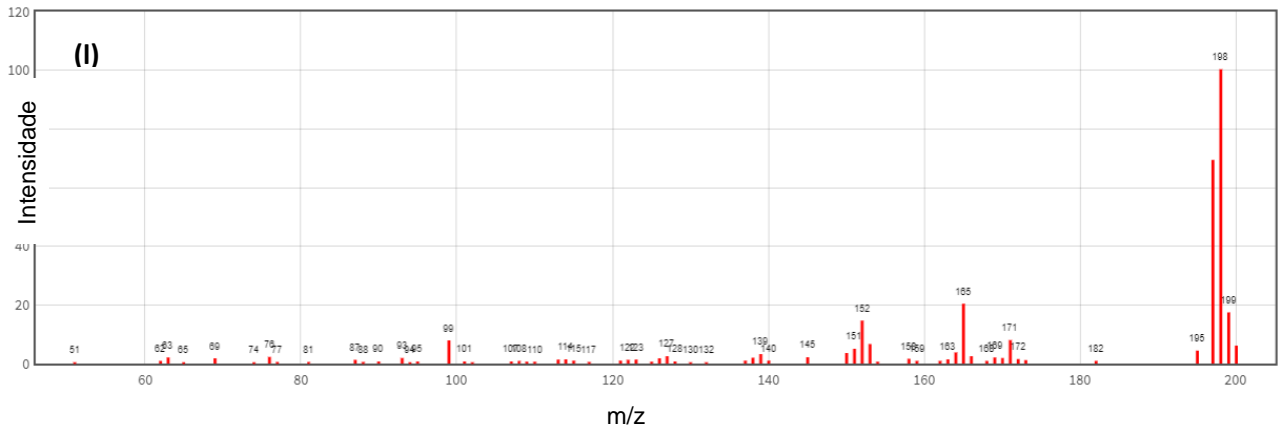
Mass Spectrum





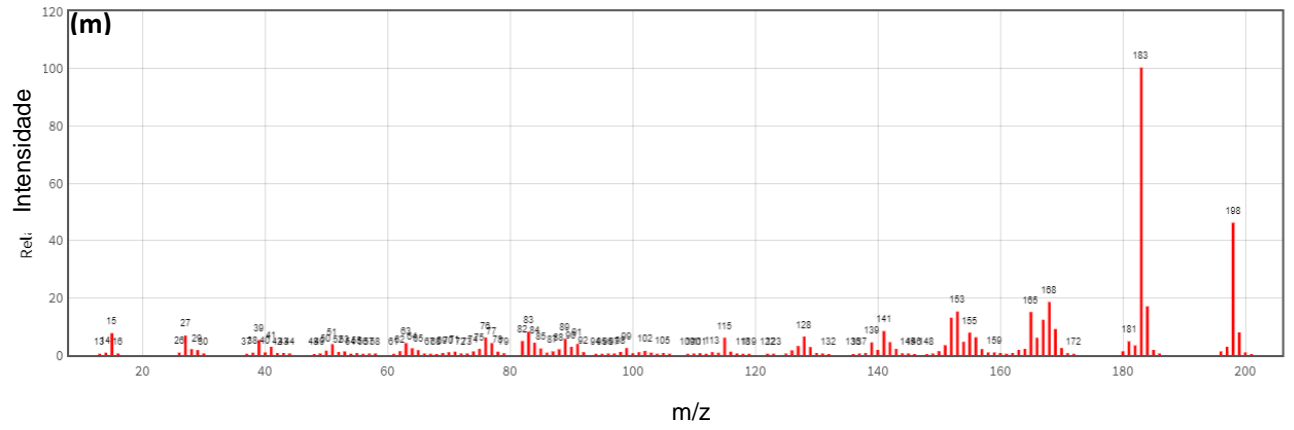
1-Methyldibenzothiophene

Mass Spectrum



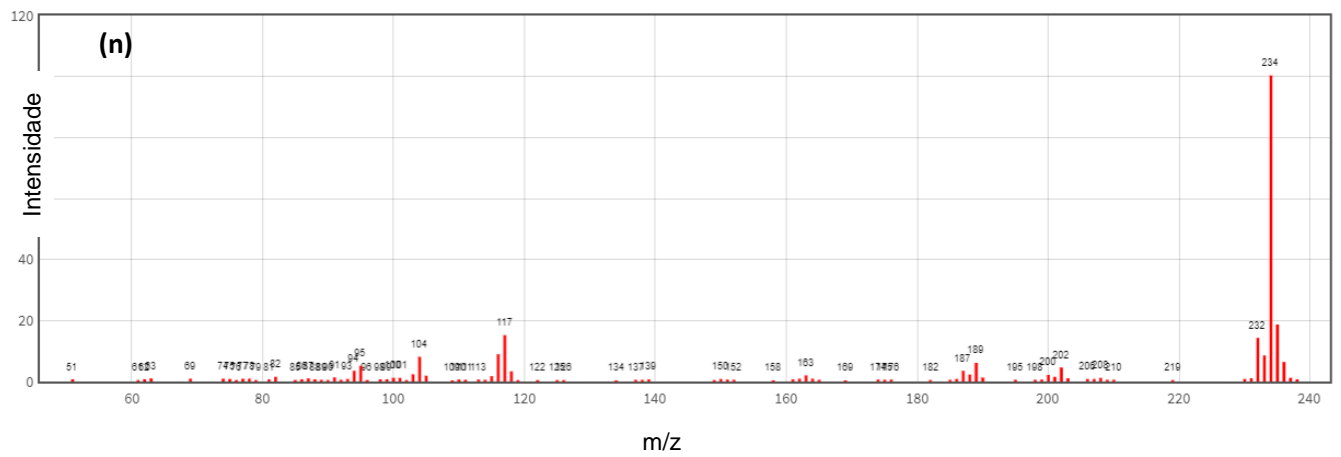
Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-

Mass Spectrum



Benzo[b]naphtho[1,2-d]thiophene

Mass Spectrum



Phenanthrene, 2,4,5,7-tetramethyl-

Mass Spectrum

