

## Hopanoides no Miocénico da sondagem de Belverde (Península de Setúbal)

### *Hopanoids in the Miocene of the Belverde borehole (Setúbal Peninsula)*

**H. Coelho<sup>1</sup>, J. Pais<sup>2a</sup>, P. Legoinha<sup>2b</sup>, P. Abreu<sup>1c</sup>, J. P. Noronha<sup>1d</sup> & Angela Relva<sup>1e</sup>**

1-REQUIMTE, Departamento de Química; 2 - Centro de Estudos Geológicos, Departamento de Ciências da Terra, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2829-516, Caparica, Portugal.

[a - jjp@fct.unl.pt](mailto:a-jjp@fct.unl.pt); [b - pal@fct.unl.pt](mailto:b-pal@fct.unl.pt); [c - pma@dq.fct.unl.pt](mailto:c-pma@dq.fct.unl.pt); [d - jpn@dq.fct.unl.pt](mailto:d-jpn@dq.fct.unl.pt); [e - amrr@dq.fct.unl.pt](mailto:e-amrr@dq.fct.unl.pt)

#### SUMÁRIO

Neste estudo foram identificados por GC-MS seis hopanoides em amostras de sedimentos recolhidos na sondagem de Belverde, em ambientes marinhos de diferentes andares do Miocénico. A análise quantitativa preliminar, sugere uma diminuição da abundância dos bio-hopanoides com a profundidade de colheita dos sedimentos, o que pode ser interpretado em termos de decaimento diagenético relacionado com o *input* bacteriano.

Palavras-chave: Bacia do Baixo Tejo, bio-hopanoides, geo-hopanoides, GC-MS, sondagem de Belverde, Miocénico, Portugal

#### SUMMARY

In the present research, six hopanoids were identified by GC-MS from samples of sediments collected in the Miocene of the Belverde borehole. Preliminary quantitative analysis suggests a downcore concentration of biohopanoids, as a result of a diagenetic decline related to the bacterial input.

*Key-words: Lower Tagus Basin, biohopanoids; geohopanoids; GC-MS; Belverde borehole, Miocene, Portugal.*

#### Introdução

Os bio-hopanoides constituem um grupo de moléculas orgânicas complexas, constituintes essenciais da membrana celular de algumas bactérias. Os seus derivados diagenéticos, os geo-hopanoides, estão largamente representados na litosfera, e constituem importantes marcadores paleoambientais das condições reinantes quando da deposição dos sedimentos. São fósseis moleculares, e têm vindo a ser usados na exploração de petróleo, nomeadamente no estudo da decomposição dos derrames superficiais. Como tal, a presença e caracterização destes compostos podem vir a constituir uma ferramenta importante no estudo das alterações recentes, bem como nas sequências sedimentares antigas, da relação ambiente/clima.

Com vista a um primeiro estudo sobre a eventual ocorrência destes compostos no Miocénico da Bacia do Baixo Tejo, foram analisadas por GC-MS amostras recolhidas na sondagem de Belverde, em ambientes marinhos de diferentes idades [1].

#### Parte experimental

Pesaram-se 30 g de cada uma das amostras depois de secas e moídas, e procedeu-se a uma extracção em

Soxhlet durante 24 h, com 180 mL de uma solução de  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  2:1. Dividiu-se o extracto por 4 vials de 10 mL e evaporou-se sob corrente de azoto até à *secura*. Uma quantidade exacta de extracto foi colocada num outro frasco de reacção, ao qual se adicionaram 10  $\mu\text{L}$  de uma solução de esqualano (10,5 mg em 10 mL) como padrão interno. De seguida, trataram-se estas amostras de acordo com Innes e outros [2] (Fig.1), com o objectivo de clivar a cadeia poli-hidroxilada dos hopanoides para facilitar a análise por GC-MS. Para tal, adicionou-se ácido periódico ( $\text{H}_5\text{IO}_6$  300 mg) em tetra-hidrofurano/água (3 mL; 8:1 v/v) e manteve-se em agitação à temperatura ambiente durante uma hora. Esta reacção provocou a oxidação de 1,2 dióis para formar aldeídos. Adicionou-se, então, 10 mL de água, e procedeu-se a 3 extracções sucessivas com éter petróleo (15 mL). Juntaram-se os extractos e evaporou-se no evaporador rotativo até perto da *secura*, sendo a água residual eliminada através de evaporação posterior, sob corrente de azoto, utilizando um azeotropo com acetona. O extracto resultante foi reduzido com boro-hidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ , 100 mg), em 3 mL de etanol, produzindo assim álcoois terminais. Após a adição cuidadosa de 15 mL de hidrogenofosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ),

100 mM, a mistura foi extraída três vezes com 15 mL de éter petróleo. Os extractos foram juntos e evaporados até perto da secura no evaporador rotativo, transferidos para vials de 10 mL e acetilados com anidrido acético/piridina (4 mL, 1:1 v/v) a 55° C durante uma hora, e deixados em repouso durante a noite. Estes extractos foram concentrados sob corrente de azoto e de seguida analisados por cromatografia de gás (GC) seguida de GC-MS, analisador TOF (GCT-MS).

**Tabela 1.** Amostras da sondagem de Belverde analisadas para pesquisa e caracterização de hopanoides.

Amostra Belverde	Profundidade (m)	Litost. [3]	Datação [4]
54	205,86	VIIa	Tortoniano inferior
55	206,96		
56	209,06		
57	210,83		
96	257,23	VIa	Serravaliano
97	258,23		
98	269,90		
99	271,82		
100	272,82		
324	515,30	II	Burdigaliano inferior
325	516,25		
326	517,25		
327	518,25		
328	519,35		

## Resultados e discussão

Foram analisadas 12 amostras de sedimentos da sondagem de Belverde (Tabela 1). As amostras 54 e 328 sofreram um acidente durante a extracção pelo que foram eliminadas. As quantidades de extracto obtido variam entre 8,6 e 29,7% (Tabela 2). A Figura 2 mostra o cromatograma de corrente iónica total e o respectivo hopanograma  $m/z$  191 obtido por GCT-MS para a amostra Bel 55. A partir da fragmentação característica dos hopanoides (Fig.3), e comparação com padrões, foram identificados três geo-hopanóides (picos 2, 3, 4, Tabela 3), e três bio-hopanóides (picos 5, 6, 7).

A análise quantitativa de três amostras (Bel. 55, 98 e 326) indicou uma diminuição da concentração de hopanóides com a profundidade, nomeadamente, de bio-hopanóides  $C_{32}, C_{33}, C_{34}, C_{35}$  tetrafuncionalizados, cuja abundância foi quantificada pela presença do derivado acetilado do produto de degradação bis-homohopanol (Pico 7, Tabela 3). Este composto regista um decréscimo de 0.81 a 0.06  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de extracto, com o aumento da profundidade do sedimento de 207 para 517 m, o que pode ser interpretado em termos do decaimento diagenético relacionado com o *input* bacteriano. A análise do perfil da abundância dos bio- e geo-hopanóides detectados nas restantes amostras (trabalho em

curso), permitirá precisar se este parâmetro reflecte uma alteração da população bacteriana nas seqüências sedimentares, ou uma alteração da composição dos hopanóides na mesma bactéria, provavelmente em resposta a flutuações das condições ambientais.

**Tabela 2.** Percentagem de extractos obtidos, e quantidade de extracto utilizado na análise

Amostra	Massa de extracto total em mg e (% de extracto)	Massa de extracto para clivagem e acetilação (mg)
Bel-55	5,2 (17,3)	2,7
Bel-56	6,0 (20,0)	3,2
Bel-57	6,7 (22,3)	3,3
Bel-96	6,3 (21,0)	3,2
Bel-97	7,3 (24,3)	3,9
Bel-98	6,2 (20,6)	3,0
Bel-99	7,7 (25,7)	3,5
Bel-100	8,9 (29,7)	4,3
Bel-324	5,7 (19,0)	3,8
Bel-325	2,6 (8,6)	1,3
Bel-326	3,2 (10,6)	1,8
Bel-327	3,8 (12,7)	2,0

**Tabela 3.** Hopanoides detectados na amostra Bel 55, e principais fragmentos característicos

(Pico)/ $t_r$ min.	Ião molecular $M^+/R$	Principais fragmentos
(2)/28.1	398/29	<b>177.15</b> 148+R (60.71%), <b>191.17</b> (100.00%), <b>383.37</b> $M^+-15$ (6.77%), <b>398.39</b> $M^+$ (2.82%)
(3)/29,1	412/43	<b>191.17</b> 148+R, (100%) <b>397.38</b> $M^+-15$ (1.66%) <b>412.40</b> $M^+$ (1.14%)
(4)/30.3	426/57	<b>191.16</b> (100), <b>205.19</b> 148+R (25.13%), <b>369.31</b> (6.55%), <b>411.39</b> $M^+-15$ (3.40%) <b>426.42</b> $M^+$ (2.26%)
(5)*/31.3	410/41 diplopteno	<b>189.16</b> 148+R, (95.47%) <b>191.17</b> (100%) <b>396.34</b> $M^+-14$ (3.50%) <b>410.38</b> $M^+$ (2.18%)
(6)*/31.5	470/101 diploptero acetilado	<b>189.16</b> 148+R-60 (%) <b>191.16</b> (%) <b>410.39</b> $M^+-60$ (%)
(7)/51.5	498/129 Bis-homo- hopanol acetilado	<b>191.17</b> (65.56%) <b>277.20</b> 148+R, (100%) <b>369.34</b> $M^+-R$ (8.71%) <b>438.42</b> $M^+-60$ (0.03%) <b>498.44</b> $M^+$ (0.34%)

\* Identificados com padrão

### Agradecimentos

Fundação para a Ciência e Tecnologia, Projectos POCTI/45720/QUI/2002 e POCTI/32345/CTA/00, Programa FEDER.

### Referências

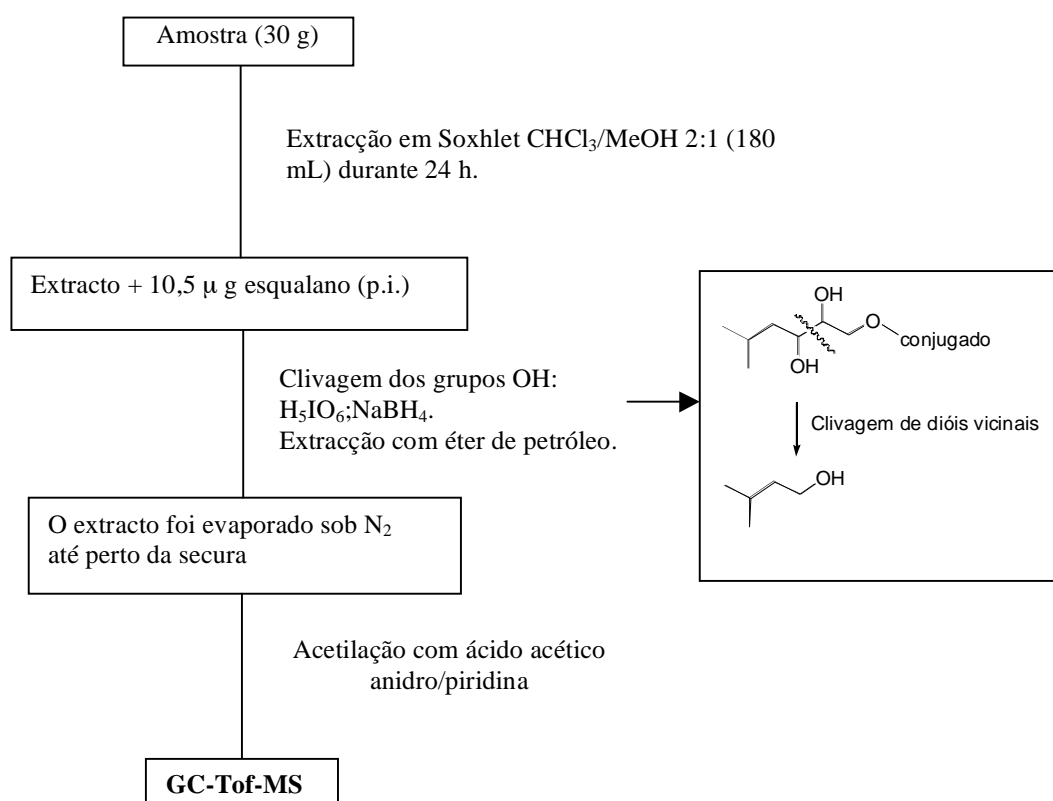
[1] Pais, J., Silva Lopes, C., Legoinha, P., Ramalho, E., Ferreira, J., Ribeiro, I., Amado, A. R., Sousa, L., Torres, L., Baptista, R. & Reis, R. P. 2003. Sondagem de Belverde (Bacia do Baixo Tejo, Península de Setúbal, Portugal). VI Cong. Nac.

Geologia, Ciências da Terra, Lisboa, nº esp. V: 13, CDRom A99-A102.

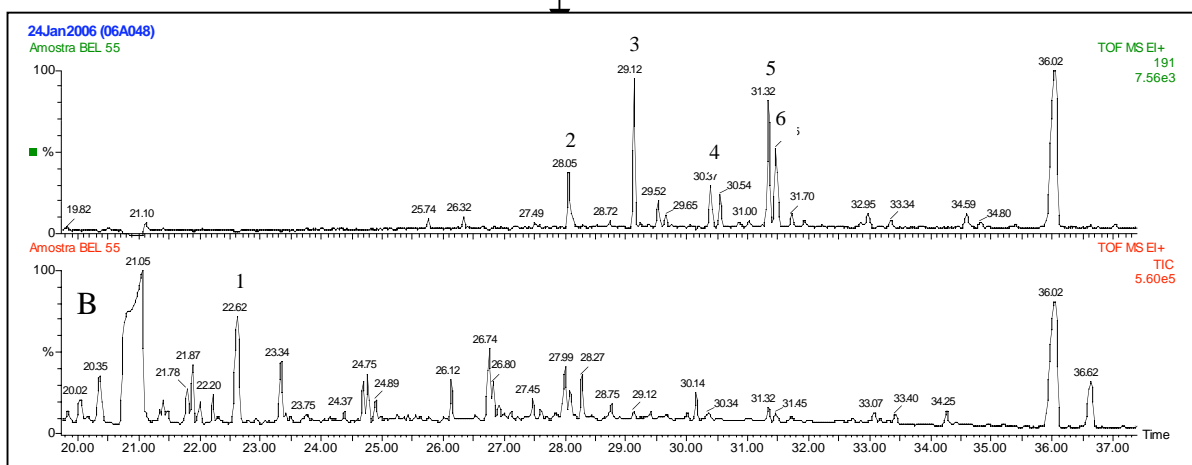
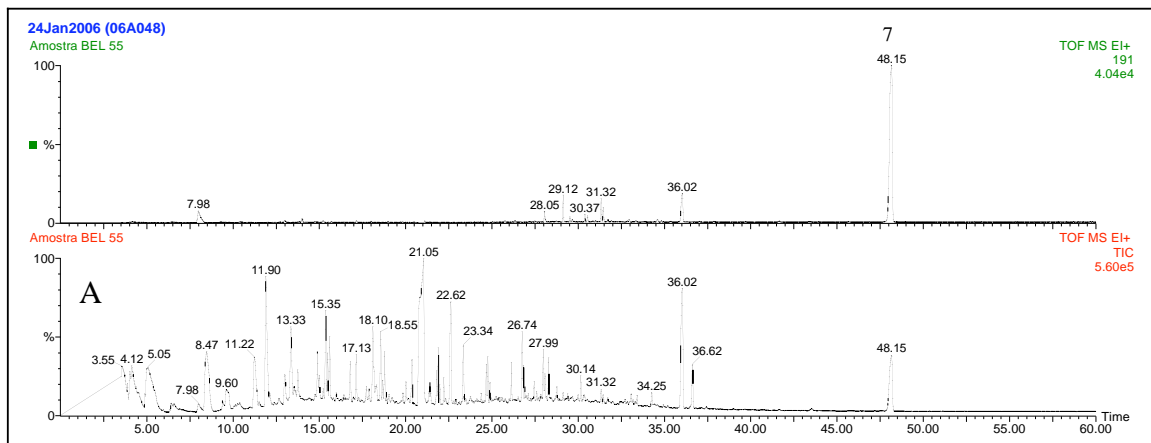
[2] Innes, H. E., Bishop, A. N., Fox, P. A., Head, I. M., Farrimond, P. 1997. Preservation and diagenesis of hopanoids in recent lacustrine sediments of Priest Pot, England. *Organic Geochemistry* 26, 565-576.

[3] Cotter, J. C. B. 1956. O Miocénico marinho de Lisboa. *Com. Serv. Geol. Portugal*, XXXVI, suplemento, 170 p.

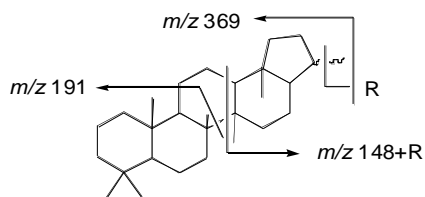
[4] Gradstein, F.; Ogg, J. & Smith, A. 2004. *A geologic time scale*. Cambridge, Univ. Press, 589 p.



**Fig. 1.** Isolamento de hopanoides solúveis e tratamento do extracto para análise por espectrometria de massa.



**Fig. 2.** (A) Cromatograma de corrente iônica total das amostras após acetilação, obtida num GCT-MS da Micromass e respectivo hopanograma,  $m/z = 191$ . (B) Ampliação da região onde se encontram os hopanoides. Picos: 1, esqualano (padrão interno); os restantes picos assinalados na figura estão identificados na tabela 3.



**Fig. 3.** Principais fragmentos obtidos por GC-MS de geo-hopanoides