**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA GERAÇÃO BIOGÊNICA DE METANO E
DIÓXIDO DE CARBONO NA FORMAÇÃO IRATI, PERMIANO DA BACIA DO
PARANÁ**

NAZARÉ DA SILVA ALMEIDA

Orientador: Dr. André Oliveira Sawakuchi

TESE DE DOUTORAMENTO

Programa de Pós-Graduação em Geoquímica e Geotectônica

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Serviço de Biblioteca e Documentação do IGc/USP

Ficha catalográfica gerada automaticamente com dados fornecidos pelo(a) autor(a)
via programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de catalogação da publicação:
Sonia Regina Yole Guerra - CRB-8/4208 | Anderson de Santana - CRB-8/6658

DA SILVA ALMEIDA, NAZARÉ
INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA GERAÇÃO BIOGÊNICA
DE METANO E DIÓXIDO DE CARBONO NA FORMAÇÃO IRATI,
PERMIANO DA BACIA DO PARANÁ / NAZARÉ DA SILVA
ALMEIDA; orientador ANDRÉ SAWAKUCHI. -- São Paulo,
2018.
130 p.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Geoquímica e Geotectônica) -- Instituto de
Geociências, Universidade de São Paulo, 2018.

1. Gás Biogênico. 2. Shale Gas. 3. Formação Irati.
4. Temperatura. 5. Efeito Estufa. I. SAWAKUCHI,
ANDRÉ, orient. II. Título.

*"The illiterate of the 21st century will not be those
who cannot read and write, but those who cannot
learn, unlearn and relearn"*

Alvin Tofler

AGRADECIMENTOS

Muito esforço, tempo e dedicação jazem nestas páginas e, terminada mais uma etapa da minha vida, é chegada a hora de rever todo o percurso percorrido até aqui e valorizar todas as grandes e pequenas coisas que permitiram que tudo se proporcionasse. O desenvolvimento deste estudo foi possível apenas com o envolvimento e apoio incondicional de várias pessoas e instituições, e por isso aqui vai o meu agradecimento carregado de um profundo sentimento de gratidão.

Para começar agradeço à Instituição, Universidade de São Paulo, pela chance de desenvolver a minha pesquisa. Ao orientador, Prof. Dr. André Oliveira Sawakuchi, pela valiosa orientação e ideias que em tanto contribuíram para este trabalho ter ganhado forma. Ao professor Dr. Luís Victor Duarte, da Universidade de Coimbra, pela disponibilidade em embarcar nesta viagem já a meio do caminho e ajudar-me tanto facilitando amostras como em discussões/revisões estratigráficas.

Ao Dr. Henrique Sawakuchi pela paciência e discussões no decorrer e conclusão deste trabalho.

A todo o “Grupo de Metano” – Laura, Victor, Maria, Dailson e Marcelo pelo apoio de campo, laboratorial, interpretação ou apenas pelos momentos de descontração que tantas vezes partilhamos.

A todos os responsáveis técnicos de laboratórios utilizados no decorrer deste projeto que depressa se tornaram amigos: Isaac Sayeg, Arthur Takashi e Luciana Nogueira. Agradeço ainda aos técnicos dos Laboratórios de Preparação de Amostras, de Química e Difração Raio-X do Instituto de Geociências. Aos técnicos do Laboratório de Análise Ambiental e Geoprocessamento (CENA-USP) – Prof. Dr. Alex Krusche e Alexandra.

Ao professor Dr. Paulo César Giannini, cujo amplo conhecimento em tanto contribuiu para resolver pequenas e grandes dúvidas decorrentes em qualquer tese. Ao Dr. Daniel Atêncio pela ajuda no desenvolvimento das análises de fluorescência de Raio-X.

Não menos importante, fica o agradecimento a todos os funcionários do serviço de manutenção e à secção de transporte.

Aos colegas e amigos que a geologia me apresentou: Helena, André e Karen, Bruno e Jaque, Alberto e Alê, Anny, Mazoca, Daniela e Pedro, Dori, Júlio, Lari e Bruno, Marcelo, Maria Paula, Renato e Lili, Cristiano, Daniel e Ana Paula. Sem eles estes quatro anos teriam sido quase depressivos =D

Aos amigos de Portugal, que apesar da distância sempre contribuíram e me apoiaram incondicionalmente ouvindo os meus desabafos: Sara, Fábio e Ritinha.

À minha segunda família, Rosa, Carlos e Edu (sogros e cunhado) por me terem recebido no vosso seio com tanto carinho.

Aos meus pais e irmã por todo apoio e amor. Não importa a distância, seremos sempre fortes. À minha irmã e cunhado por me terem proporcionado uma das maiores alegrias da minha vida, a Helena, que tantas vezes e mesmo sem saber trouxe um brilho especial ao meu dia.

A ti, Carlos, agradeço por seres TU... por me aceitares sendo EU... por sermos UM SÓ.

RESUMO

Metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) são gases de grande importância climática e energética, pois contribuem para o efeito de estufa, mas também para produção de energia, no caso do CH_4 . Do ponto de vista energético, reconhecer as diferentes fontes de geração de CH_4 torna-se um fator crucial na avaliação das reservas mundiais de gás natural, uma vez que as estimativas atuais de reservas potenciais são calculadas com base na geração termogênica de hidrocarbonetos gasosos, desconsiderando a geração de CH_4 como produto da biodegradação de matéria orgânica em bacias sedimentares. A temperatura é um dos fatores mais importantes que afetam o crescimento microbiano e as reações biogeoquímicas ligadas à metanogênese. A Formação Irati (Permiano da Bacia do Paraná) ocorre na região sul da América do Sul e representa um dos folhelhos orgânicos mais importantes do mundo, atingindo até 23% de carbono orgânico total (COT) e cobrindo uma área de aproximadamente 700.000 km^2 . A história térmica deste importante reservatório de carbono é atípica por hospedar rochas ígneas do Cretáceo. Isto proporcionou a ocorrência de zonas termicamente imaturas até zonas com maturidade suficiente para a geração termogênica de CH_4 . Este estudo trata da influência da temperatura na geração de CH_4 e CO_2 biogênicos em folhelhos da Formação Irati. Para isto, amostras de folhelho foram utilizadas em experimentos de incubação realizados sob diferentes temperaturas (22°C, 50°C, 70°C e 80°C), com objetivo de avaliar a influência das condições térmicas sobre a geração biogênica de CH_4 e CO_2 . Temperaturas mais elevadas promoveram maiores taxas de produção de CH_4 e CO_2 . A produção biogênica de CH_4 mostrou-se mais eficiente em condições de temperatura de 80°C, com um rendimento máximo de 2,45 ml/t.d em comparação com 0,49 ml/t.d a 22°C, 1,75 ml/t.d e 2,09 ml/t.d a 50°C e 70°C, respectivamente. A mesma tendência foi observada para o CO_2 co-produzido durante a metanogênese. O potencial de produção máximo de CO_2 foi observado sob condições térmicas de 80°C, atingindo 23467,37 ml/t.d. As diferenças de produção obtidas para as diferentes amostras analisadas parecem estar relacionadas com a composição química da matriz mineral, observando-se maior produção em amostras com maior quantidade de enxofre (S), quando submetidas a altas temperaturas (50°C, 70°C e 80°C). Além dos folhelhos da Formação Irati, níveis orgânicos das formações Água de Madeiros e Vale das Fontes, Jurássico da Bacia Lusitânica, foram também estudados, os quais são termicamente imaturos e apresentam querogênio tipicamente marinho, distinto do observado na Formação Irati. O aumento da geração biogênica de CH_4 e CO_2 com a elevação da temperatura também foi observado para amostras das formações Água de Madeiros e Vale das Fontes. Isto sugere que a geração biogênica de CH_4 é favorecida por temperaturas mais elevadas (>80°C) e indica que a zona de geração de CH_4 biogênico em bacias sedimentares é mais ampla do que usualmente relatado na literatura.

Este trabalho constitui o primeiro estudo que avaliou o efeito da temperatura na produção de gases de origem biogênica em folhelhos da Formação Irati (Bacia do Paraná) e das formações Água de Madeiros e Vale das Fontes (Bacia Lusitânica – Portugal).

Palavras-chave: *Gás Biogênico; Shale Gas; Bacia do Paraná; Bacia Lusitânica; Temperatura; Efeito Estufa;*

ABSTRACT

Methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂) have great environmental and economic importance due to their contribution to the greenhouse effect and climate change, but also as energy resource, in the case of CH₄. From the energy point of view, recognizing the different sources of CH₄ in sedimentary basins has a crucial factor in assessing the world's natural gas reserves, since the current estimates of hydrocarbons accumulations in sedimentary basins are based on thermogenic generation of hydrocarbons. However, few studies evaluate the importance of CH₄ and CO₂ generation as a product of organic matter biodegradation in sedimentary basins. This issue has great relevance to improve the estimates about the geological accumulations of CH₄ and CO₂. Temperature is one of the most important factors affecting microbial growth and biogeochemical processes responsible for CH₄ and CO₂ generation in subsurface environments. In this context, the Irati Formation (Permian of the Paraná Basin) in southern of South America represents one of the most organic-rich shale around the world, reaching up to 23% of total organic carbon (TOC) and covering an area of approximately 700.000 km². The thermal history of this important geological carbon pool is atypical because it depends not only on the burial history, but also on the emplacement of igneous bodies during the Early Cretaceous. In this study, shale samples of the Irati Formation were used in incubation experiments performed under different temperatures (22°C, 50°C, 70°C and 80°C) to evaluate the influence of thermal conditions on biogenic generation of CH₄ and CO₂. Higher temperatures promoted higher production rates of CH₄ and CO₂. Biogenic CH₄ production was more efficient when shale samples were incubated at 80°C, with a maximum yield of 2.45 ml/t.d compared to 0.49 ml/t.d at 22°C, 1.75 ml/t.d at 50°C and 2.09 ml/t.d at 70°C. The same trend was observed for CO₂ generated as by-product of methanogenesis. The maximum production for CO₂ was observed at 80°C, reaching 23467.37 ml/t.d. The differences in CH₄ and CO₂ production observed for different analyzed samples seem to be related to the composition of the mineral matrix, being observed higher production in samples with higher amount of sulfur. Additionally, organic layers of the Água de Madeiros and Vale das Fontes Formations (Lusitanian Basin), which are thermally immature and present typically marine kerogen, were also submitted to incubation experiments to evaluate CH₄ and CO₂ generation. Higher biogenic generation of CH₄ with the elevation of temperature was also observed for the Água de Madeiros and Vale das Fontes Formations. This suggests that biogenic CH₄ generation is favored by higher temperatures, at least until 80°C, independent of the thermal maturity of the substrate, pointing that the temperature window (and depth zone) for the generation of biogenic CH₄ in sedimentary basins is larger than suggested in previous studies.

Keywords: Biogenic Gas; Shale Gas; Paraná Basin; Lusitanian Basin; Temperature; Greenhouse effect;

APRESENTAÇÃO

Este estudo trata da influência da temperatura sobre a geração de metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) a partir da biodegradação de folhelhos orgânicos em bacias sedimentares. Para isto, foram aplicados métodos já conhecidos, ainda que reajustados para atender as especificidades do presente estudo. A base metodológica assenta em testes de incubação com amostras de folhelhos desenvolvidos sob diferentes temperaturas (22°C , 50°C , 70°C e 80°C). Apesar da intenção de avaliar temperaturas mais elevadas, devido à presença de água no interior dos vials e o aumento significativo de pressão, fomos limitados a testes até 80°C . Além disso, foram feitas análises de compostos inorgânicos para entender se de alguma forma a presença, ou ausência, de certos elementos químicos interfere na metanogênese.

No decorrer dos experimentos, notou-se a segregação de biofilme no interior do microcosmos, seguida da precipitação de minerais com hábito acicular (agulhas), para os testes desenvolvidos a temperaturas mais elevadas. Atendendo a isso, o material precipitado foi caracterizado por difração de raios-X, microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e medidas de pH do meio aquoso.

Além do uso de amostras da Formação Irati como substrato para desenvolvimento dos testes de incubação para produção de CH_4 e CO_2 , foram feitos testes adicionais, avaliando o potencial de geração biogênica de metano, em níveis orgânicos da Bacia Lusitânica, em Portugal. O desenvolvimento deste estudo surge de uma parceria com o Prof. Dr. Luís Vitor Duarte, do Departamento de Ciências da Terra da Universidade de Coimbra – Portugal.

A presente Tese de Doutorado inclui capítulo introdutório, descrição dos métodos, síntese de resultados e, por último, discussões e conclusões gerais do estudo. Os resultados detalhados desta tese são apresentados na forma de 2 manuscritos para publicação que podem ser consultados em anexo ao volume. O primeiro manuscrito, *“Influence of Temperature on Generation of Biogenic Methane and Carbon Dioxide in organic-rich shales of the Permian Irati Formation”*, expõe os resultados de experimentos de incubação de amostras de folhelho da Formação Irati com diferentes porcentagens de carbono orgânico total e composição da matriz, em diferentes temperaturas, por forma a avaliar de que forma a temperatura influencia na

geração biogênica destes gases, bem como simular o efeito do soterramento na geração de um sistema precoce de gás biogênico.

O segundo manuscrito, “*Biogenic Gas Generation in the Lower Jurassic Organic-Rich Units from Lusitanian Basin, Portugal*” compila os resultados obtidos em experimentos de incubação de níveis orgânicos ricos da Bacia Lusitânica - Portugal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Consumo energético mundial por fonte de energia (1990-2040); Unidades em qBTU (quadrillion British Thermal Unit). Adaptado de <i>International Energy Outlook 2017</i> (EIA/ARI).....	16
Figura 2. Projeções de produção de gás natural (tcf) nos 48 estados contíguos dos EUA (exceção de Alaska e Havaí). Adaptado de EIA (2017).....	17
Figura 3. Bacias sedimentares (em amarelo) com potencial geológico para exploração de gás de folhelho no Brasil, segundo avaliação da EIA (2013). Modificado de EIA (2013).....	20
Figura 4. Diagrama de classificação de CH ₄ termogênico e biogênico por combinação de $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ em PDB e $\delta^{13}\text{D}_{\text{CH}_4}$ em (VSMOW). Modificado de Whiticar (1999).....	22
Figura 5. Localização da Bacia do Paraná na plataforma Sul Americana (A); B) área de exposição da sequencia permiana da Bacia do Paraná no Brazil C) Secção estratigráfica simplificada do sistema petrolífero Irati-Pirambóia; As estrelas representam pontos de amostragem; Adaptado de Calça (2014).....	36
Figura 6. Produção esperada para CH ₄ e CO ₂ biogênicos a partir da biodegradação dos folhelhos da Formação Irati, expressa em ml por tonelada de folhelho por dia, quando submetidas a diferentes temperaturas (22°C, 50°C, 70°C e 80°C).....	45
Figura 7. Curvas de produção acumulada de CH ₄ e CO ₂ obtidas em testes de incubação com amostras de folhelho da Formação Irati coletadas a norte do arco Ponta Grossa. Os testes foram desenvolvidos sob temperaturas de 22°C (azul), 50°C (amarelo), 70°C (laranja) e 80°C (vermelho).....	46
Figura 8. Curvas de produção acumulada de CH ₄ e CO ₂ obtidas em testes de incubação com amostras de folhelho da Formação Irati coletadas a sul do arco Ponta Grossa. Os testes foram desenvolvidos sob temperaturas de 22°C (azul), 50°C (amarelo), 70°C (laranja) e 80°C (vermelho). As barras de erro representam desvios padrões obtidos através das triplicatas.....	46
Figura 9. Curvas de produção acumulada de CH ₄ para as amostras das formações Água de Madeiros (GP33B) e Vale da Fontes (PE308 e PE582) da Bacia Lusitânica incubadas sob condições secas (cinza), úmidas a 22°C (azul) e úmidas a 50°C (amarelo) e 70°C (a laranja)....	49
Figura 10. Curvas de acumulação biogênicas de CH ₄ e CO ₂ durante o experimento 2. Azul representa as curvas de produção sob temperatura de 22°C, amarelo sob 50°C, laranja sob 70° e a os experimentos sob temperatura de 80°C representado a vermelho.....	52
Figura 11. Detalhe da gipsita precipitada no interior dos vials durante os experimentos de incubação de amostras de folhelho da Formação Irati. Imagens obtidas ao final de 30 dias de incubação sob temperaturas de 22°C (A), 50°C (B) e 70°C (C); BF (biofilme) GYP (gyspsita).....	53
Figura 12. Microfotografias do biofilme e agulhas de gipsita precipitada durante os experimentos de incubação. A) Aparência geral da gipsita precipitada sob temperatura de 50°C (nicóis paralelos, NP); B) mesma foto que A em nicóis cruzados (NC); C) Detalhe da interação dos biofilme com a gipsita precipitada (NP); D) detalhe de colónia de bactérias presentes no biofilme.....	54

Figura 13. Difractograma do biofilme segregado e cristais precipitados no interior dos vials de vidro (2Theta – Coupled TwoTheta/Theta) WL=1.54060.....	55
Figura 14. A) Aspecto morfológico do biofilme e precipitado de gipsita em MEV; B e C) Detalhe do biofilme que envolve as agulhas de gipsita; D) Detalhe da presença de coccus em zonas de clivagem da gipsita; BF (biofilme); GYP (Gipsita); CC (Coccus) e setas apontam para possíveis filamentos bacterianos.....	56
Figura 15. Projeção das assinaturas isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ de CH_4 e CO_2 gerados durante os experimentos de incubação da Formação Irati a 50°C e 70°C em gráfico relacionando $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ e $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ adaptado de Milkov 2011.....	61
Figura 16. Gráficos de correlação para produção de CH_4 e CO_2 para todas as amostras incubadas da Formação Irati, sob as diferentes temperaturas testadas.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Localização das amostras e teor de COT. Composição de elementos maiores obtidos por fluorescência de raio-X antes e após incubação a diferentes temperaturas (22°C, 50°C, 70°C e 80°C).....	44
Tabela 2. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ para CH_4 e CO_2 produzidos em testes a 50°C e 70°C de temperatura e na presença de BES (Bromo-Etano-Sulfureto-inibidor metanogénico).....	51
Tabela 3. Medidas de pH obtidas antes e depois dos testes de incubação sob temperaturas entre 22°C e 80°C. Medidas obtidas a partir das médias das triplicatas.....	57
Tabela 4. Comparação da produção de gases biogênicos para a Formação Irati com outras unidades de folhelho no mundo; em destaque o valor máximo de produção obtido no decorrer do presente estudo.....	64

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	v
APRESENTAÇÃO.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1. Coleta e Preparação de Amostras.....	35
3.2. Análise de COT e Fluorescência de Raios-X.....	36
3.3. Experimentos de Incubação.....	37
3.4. Análise de Isótopos Estáveis de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em CH_4 e CO_2	38
3.5. Caracterização de Biofilmes e Minerais Autigênicos por Microscopia Ótica e Eletrônica e Difração de Raios-X.....	39
3.6. Medidas de pH.....	40
4. RESULTADOS.....	41
4.1. COT e Fluorescência de Raios-X.....	42
4.2. Experimento 1: Produção de CH_4 e CO_2 Biogênicos sob Temperatura constante.....	45
4.3. Experimento 2: Produção de CH_4 e CO_2 Biogênicos sob Aumento Progressivo de Temperatura.....	50
4.4. Assinatura Isotópica $\delta^{13}\text{C}$ de CH_4 e CO_2	50
4.5. Biofilme – Petrografia, Difração de Raios-X e MEV.....	53
4.6. pH.....	56
5. DISCUSSÕES.....	58
5.1. Efeito da Temperatura na Produção de CH_4 e CO_2 Biogênicos.....	59
5.2. Implicação para Emissão Geológica de Gases de Efeito Estufa.....	64
5.3. Precipitação Mineral Bio-Induzida e sua relação com Sistemas Petrolíferos.....	66
6. CONCLUSÕES.....	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	lxxiii
ANEXOS.....	lxxxii
Anexo I. Influence of Temperature on Generation of Biogenic Methane and Carbon Dioxide in Organic-Rich Shales of the Permian Irati Formation.....	lxxxiii
Anexo II. Biogenic Gas Generation in the Lower Jurassic Organic-Rich Units from Lusitanian Basin, Portugal.....	cxii

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a pesquisa científica e a exploração e produção de gás natural têm contribuição crescente de reservas não-convencionais, com destaque para gás de folhelho (*shale gas*) (Melikiglu, 2014), que tem o metano (CH_4) como componente principal. Um dos principais parâmetros avaliados para a caracterização do potencial de geração e acumulação de CH_4 em folhelhos, além do teor de carbono orgânico total (COT), tem sido a maturidade térmica, uma vez que a temperatura é essencial para o craqueamento térmico de compostos orgânicos (querogênio) e a consequente geração de gás natural. Esta abordagem assume que a geração termogênica é responsável pela formação das reservas de gás natural. No entanto, o metano biogênico, produto da biodegradação anaeróbica de folhelhos ricos em matéria orgânica, tem sido negligenciado nos últimos anos como fonte potencial para acumulação de gás natural como recurso energético. Desta forma, as reservas de gás natural podem estar subestimadas, uma vez que o CH_4 biogênico em rochas geradoras termicamente imaturas não é considerado na avaliação de potencial de reservas de gás natural em reservatórios não-convencionais.

Apesar do conhecimento da ocorrência de CH_4 biogênico e dióxido de carbono (CO_2) em reservas de gás de folhelho (Rice, 1993; Martini et al., 1996; Schurr & Ridgley, 2001), os fatores que controlam a taxa de produção desses gases por via biogênica em subsuperfície são pouco estudados. A maioria dos estudos realizados nas últimas décadas para avaliar os sistemas geradores de CH_4 e CO_2 biogênicos (Kuivila et al., 1989; Martini et al., 1996; Martini et al., 2003; Yu et al., 2014) tiveram como objetivo principal estimar as emissões de gases de efeito estufa a partir de reservatórios geológicos (e.g. Klusman & Jakel, 1998; Etiope & Klusman, 2002; Etiope & Klusman, 2010), e poucos estudos avaliaram o potencial de geração de CH_4 biogênico para exploração e produção de gás natural (e.g. Rice, 1993; Martini et al., 1996; Havukainen et al., 2014).

As *archaeas* metanogênicas são os microrganismos responsáveis pela produção de CH_4 e CO_2 como sub-produto da biodegradação da matéria orgânica, as quais podem sobreviver em habitats hostis, tais como em meios halofílicos (ricos em sal) ou termófilos (alta temperatura) (Rice, 1993).

Os estudos desenvolvidos até ao momento indicam que a produção de CH_4 após o soterramento dos sedimentos é favorecida em ambientes anóxicos com disponibilidade de

matéria orgânica, deficientes em sulfato, sob temperatura abaixo de 80°C e com espaço poroso suficiente (Reinhart & Townsend, 1997). Estas condições implicam que o CH₄ biogênico seja gerado principalmente na zona mais rasa que 2 km de profundidade, considerando a temperatura da superfície de 20°C e gradiente geotérmico de 25-30°C/km. Embora os efeitos de fatores como a biodisponibilidade da matéria orgânica (Jones et al., 2008; Gao et al., 2013; Kruger et al., 2014; Bertassoli Jr, et al., 2016), a umidade (Reinhart & Townsend, 1997, Bertassoli Jr et al., 2016), disponibilidade de ácido acético (Bertassoli Jr, et al., 2016) ou porosidade (Gasparik et al., 2012; Liu et al., 2015) sobre a geração de CH₄ biogênica já terem sido estudados, a avaliação do efeito da temperatura na geração de CH₄ biogênico foi restrita ao papel da maturidade térmica da matéria orgânica (Meslé et al., 2013; Kruger et al., 2014).

A temperatura é um dos fatores mais importantes que afetam o crescimento microbiano e as reações biogeoquímicas. A maioria dos estudos acerca do efeito da temperatura sobre a geração biogênica de CH₄ foi desenvolvida para biodegradação de biomassa (Zielinska et al., 2013; Havukainen et al., 2014; Yu et al., 2014; Markowski et al., 2014) ou petróleo bruto (Zekri & Chaalal, 2005) como substratos. Os organismos metanogênicos termofílicos estão presentes em ambientes terrestres superficiais e em marinhos específicos, incluindo sistemas hidrotermais em áreas continentais e *deep-sea vents* (Takai & Horikoshi, 1999; Ver Eecke et al., 2012) ou até mesmo em campos de plantação de arroz, que apesar de ser considerado um ambiente de baixa temperatura (15-30°C), experimentos de incubação em solos revelaram produções elevadas em temperaturas mais elevadas (até 60°C) indicando a presença de metanógenos termofílicos (Fey et al., 2001; Yao & Conrad, 2000a). O efeito da temperatura na geração de CH₄ biogênico usando matéria orgânica fóssil como substrato permanece em grande parte não caracterizado. Do mesmo modo, poucos estudos abordaram a geração biogênica de dióxido de carbono (CO₂) em folhelhos ricos em matéria orgânica. Além da importância do CH₄ como recurso energético, a geração de CH₄ e CO₂ através da biodegradação de folhelhos orgânicos pode ter um papel importante no ciclo de carbono a longo prazo e para as emissões geológicas de gases de efeito estufa.

Na América do Sul, as bacias sedimentares cratônicas alojam amplas unidades de folhelhos paleozóicos ricos em matéria orgânica (Milani et al., 2007). No Brasil, as bacias do Paraná, Solimões e Parnaíba podem conter reservas recuperáveis de aproximadamente 245 Tcf de gás em folhelhos (EIA/ARI, 2013). Isto sugere grande potencial das bacias sedimentares brasileiras para produção de gás natural, além de se destacarem como importantes reservatórios geológicos de carbono. Neste contexto, a Formação Irati na Bacia

do Paraná inclui folhelhos betuminosos (querogenio tipo I) de idade Permiana. Seu alto conteúdo de COT, que atinge até 23% e maturidade térmica variável, fortemente dependente da colocação de corpos magmáticos durante o Cretáceo (Araújo et al., 2000), indicam a formação como importante reservatório de carbono de escala regional e fonte potencial de hidrocarbonetos termogênicos e biogênicos. A Formação Irati atinge profundidades >3000 (Araújo et al., 2000) e hospeda soleiras e diques da Província Magmática Serra Geral (Milani et al., 2007), que representa um dos maiores eventos magmáticos continentais já descritos no mundo. Estas condições atípicas promoveram a maturidade térmica variada da Formação Irati, variando desde zonas imaturas até zonas de supermaturação e geração de hidrocarbonetos termogênicos.

Esta tese de doutoramento teve como objetivo o estudo da geração biogênica de CH₄ em folhelhos ricos em matéria orgânica, com destaque para a relação entre a temperatura e a taxa de produção de CH₄ biogênico. Para tal, foram desenvolvidas experimentos de incubação em condições térmicas distintas (temperaturas de 20°C, 50°, 70° e 80°C) em folhelhos da Formação Irati com características variáveis (COT, maturidade térmica e composição química/mineralógica). No presente estudo o papel da temperatura na geração biogênica de CH₄ (e CO₂ como sub-produto) foi tratado levando em consideração que a temperatura pode ter um papel preponderante na ação de microrganismos metanogênicos e que mudanças térmicas bruscas podem interferir na sua eficiência e/ou adaptação. Atendendo a isso, foram elaborados dois experimentos distintos; 1) avaliando como as temperaturas afetam a geração biogênica de CH₄ e CO₂ em sistemas não convencionais, como o caso de unidades de folhelhos, e 2) como os microrganismos metanogênicos respondem às mudanças de temperatura ao longo do soterramento natural da bacia. Além da Formação Irati, foram desenvolvidos experimentos de incubação com folhelhos orgânicos das formações Água de Madeiros e Vale das Fontes (Duarte & Soares, 2002; Duarte et al., 2012), idade Jurássico inferior, da Bacia Lusitânica em Portugal. Por se tratar de contexto geológico distinto em relação ao da Formação Irati, com baixa maturidade térmica (Ro 0,45%) e com matéria orgânica distinta (querogênio tipo II), torna-se um estudo comparativo importante para o entendimento de geração biogênica de CH₄ e CO₂ em bacias sedimentares.

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. PANORAMA ENERGÉTICO MUNDIAL – PROJEÇÕES FUTURAS

Com o intuito de promover um fornecimento de energia sustentável e acessível para todos, acesas discussões sobre o panorama energético mundial pelo *World Energy Council* têm ocorrido há quase um século. O último relatório da Administração de Energia dos EUA (U.S. EIA, 2017) projeta aumento do consumo mundial de energia de 28% até 2040 (Fig.1). O mesmo relatório prevê ainda aumento comercial de todas as fontes de combustíveis, com exceção do carvão, sendo que as energias renováveis devem ser a fonte com maior crescimento, aumentando em média 2.3%. Apesar das tentativas de diminuir a dependência de combustíveis fósseis, por questões ambientais relacionadas a sua exploração, a transição para uma energia totalmente limpa em termos de emissões de carbono para a atmosfera ainda está longe de ser uma realidade, atentando às projeções a médio prazo (2040). Tendo isso em mente, muitos autores apontam o gás natural como a principal opção na redução de gases efeito estufa por quantidade de energia produzida (Pacala et al., 2004; Melikoglu, 2014).

Figura 1. Consumo energético mundial por fonte de energia (1990-2040); Unidades em qBTU (quadrillion British Thermal Unit). Adaptado de *International Energy Outlook 2017* (EIA/ARI).

O desenvolvimento de técnicas de perfuração horizontal e fraturamento hidráulico permitiram o aproveitamento de reservas de gás natural em rochas de baixa permeabilidade, como o folhelho (*shale gas*) (Kuuskraa et al., 2011). Este fato revolucionou o mercado energético e transformou estas reservas não-convencionais no maior contribuinte (Fig. 2) ao aumento de produção de gás natural, sendo os EUA o país referência na sua exploração e produção (U.S. EIA, 2017).

Figura 2. Projeções de produção de gás natural (tcf) nos 48 estados contíguos dos EUA (exceção de Alasca e Havai). Adaptado de EIA (2017).

2.1. RESERVAS NÃO CONVENCIONAIS DE GÁS NATURAL

De maneira geral, gás natural, representado principalmente por metano (CH_4), de reservas não convencionais é produzido a partir de rochas tradicionalmente consideradas incapazes de expelir volumes comerciais de hidrocarbonetos devido à sua baixa permeabilidade natural. As acumulações convencionais produzem gás a partir de rochas porosas e permeáveis, tais como arenitos e calcários. Acumulações não convencionais, por outro lado, produzem volumes de gás a partir de arenitos e calcários pouco porosos (*tight gas*), de rochas de granulação fina como folhelhos (*shale gas*) ou de carvão mineral (*coalbed methane*) (Zalan, 2012). Os recursos de

gás natural não convencional são geralmente encontrados em formações rochosas menos permeáveis, onde as acumulações de recursos são distribuídas sobre uma área maior do que o gás convencional (Shurr et al., 2002).

Os EUA, representam hoje o principal país explorador e produtor de gás natural, sendo o *shale gas* (gás de folhelho) o grande responsável pelo aumento da oferta deste combustível fóssil na última década. Os avanços tecnológicos da indústria do petróleo e gás que viabilizaram a expansão da perfuração horizontal e fraturamento hidráulico (*fracking*) têm desbloqueado vastas reservas mundiais de gás de folhelho ao longo dos últimos anos. O cenário revolucionário e lucrativo do gás de folhelho nos EUA abriu precedente para debate global quanto ao desenvolvimento deste recurso fora do Estados Unidos. No mundo, as reservas de *shale gas* são extensas, mas número considerável de bacias sedimentares com reservas potenciais cujos recursos ainda não foram estimados podem mudar o total dos recursos e alterar o panorama energético mundial. Por agora, América do Norte (Canadá e EUA), América do Sul, norte de África, norte da Europa e Rússia completam a maior fatia das reservas conhecidas (Melikoglu, 2014).

QUADRO 1 – CONCEITO DE RECURSO

Recursos tecnicamente recuperáveis representam os volumes de petróleo e gás natural que poderiam ser produzidos com a tecnologia atual, independentemente dos preços do petróleo e de gás natural e custos de produção. Por outro lado, recursos economicamente recuperáveis são recursos que podem ser produzidos em condições de mercado atuais. A recuperação econômica dos recursos de petróleo e gás dependem do custo de perfuração de poços, da quantidade de petróleo ou gás natural produzido a partir de um poço ao longo de sua vida útil e dos preços de mercado e custos de produção de petróleo e/ou gás (U.S. Energy Information Administration, 2015).

A experiência recente com *shale gas* nos Estados Unidos sugere que a recuperação econômica pode ser significativamente influenciada por fatores externos à geologia do depósito (Middleton et al., 2017). Fatores que podem ser considerados positivos e essenciais à produção deste tipo de gás nos Estados Unidos, podem não se aplicar em outros locais, como direitos de propriedade privada, disponibilidade de operadores independentes e de apoio de empreiteiros com experiência na área de

plataformas de perfuração adequados, existência de gasodutos e infraestrutura de transporte do recurso, bem como a disponibilidade de recursos hídricos para uso em fraturamento hidráulico (Middleton et al., 2017).

No cenário atual, é importante lembrar que existem muitas limitações e barreiras a serem superados para que o potencial de geração/armazenamento de CH₄ em folhelhos possam ser convertidos em energia de baixo custo e economicamente recuperável. É essencial um estudo detalhado e considerar como condições geológicas, geográficas, econômicas e ambientais podem se aplicar num contexto mundial, especialmente em relação à experiência dos Estados Unidos (U.S. Department of Energy, 2009).

2.1.1. SHALE GAS – POTENCIAL NO BRASIL

Apesar da ampla distribuição de folhelhos orgânicos nas bacias intracratônicas brasileiras (sinéclises), poucos trabalhos foram publicados até ao momento caracterizando estes possíveis reservatórios não convencionais de gás natural.

Em 2013, a Energy Information Administration (EIA) publicou o primeiro relatório avaliando o potencial de recursos de *Shale Gas* de três bacias terrestres do Brasil (Paraná, Solimões e Amazonas). Estas bacias possuem níveis de *shale* que podem ser encarados como potenciais geradores/armazenadores não convencionais de gás natural e comercialmente produtivos. Nessa avaliação são consideradas, no total, 11 bacias sedimentares brasileiras: Paraná, Solimões, Amazonas, Potiguar, Parnaíba, Parecis, Recôncavo, Sergipe-Alagoas, São Francisco e Taubaté (Fig.3) estimando um total de 1.279Tcf de gás acumulado. As bacias do Paraná, Solimões e Amazonas, as bacias principais, totalizam cerca de 245Tcf de recursos tecnicamente recuperáveis de *shale* (EIA/ARI, 2013).

Apesar do potencial geológico promissor à exploração de *shale gas* no Brasil, os estudos de previsão de mercado, tanto levado a cabo pela EIA como pela ANP, limita a análise do potencial das bacias nacionais como reservatório de gás não convencional, à origem termogênica de CH₄. No entanto, existe uma porção, tanto ou mais importante, de metano gerado a partir da biodegradação de matéria orgânica presente nas camadas de folhelhos - o metano biogênico (Shurr et al., 2002).

Neste cenário, reservas potenciais que hoje são desconsideradas devido à baixa maturação térmica dos folhelhos, parâmetro essencial à geração de gás termogênico, poderiam ser contabilizadas como potenciais à geração de biogênico, podendo aumentar consideravelmente as reservas mundiais (e nacionais) de produção/exploração deste recurso não convencional (Shurr et al., 2002)

Figura 3. Bacias sedimentares (em amarelo) com potencial geológico para exploração de gás de folhelho no Brasil, segundo avaliação da EIA (2013). Modificado de EIA (2013).

2.2. METANO BIOGÊNICO

O metano (CH₄) é o principal componente das reservas de gás natural. A geração de CH₄ é dominada por dois processos principais (Wuebbles et al., 2002): **(i)** metano gerado por bactérias metanogênicas - *archaea*, conhecido como metano biogênico e **(ii)** metano gerado durante a decomposição termicamente ativada de moléculas orgânicas maiores - o metano termogênico.

A biodegradação de matéria orgânica implica na cooperação de diversas comunidades de micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos, tais como bactérias fermentadoras e *archaeas* metanogênicas, cuja simbiose resulta na geração de CH₄ biogênico (Colosimo et al., 2016).

O metano biogênico em subsuperfície é gerado preferencialmente por duas vias metabólicas: redução de CO₂ (Eq. 1) ou fermentação de acetato (Eq. 2) (Rice, 1993), ainda que outros compostos de substrato possam ser usados como fonte, tais como ácido metanoico, álcool, amidas metiladas e sulfetos (Zinder, 1993).

A determinação da origem do metano como termogênica e/ou biogênica pode ser feita através da análise de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e hidrogênio (δD) combinada com a abundância relativa de metano a outros hidrocarbonetos gasosos (Fig. 4) (Whiticar, 1999). De uma forma geral, o CH₄ termogênico é geralmente enriquecido em ¹³C em relação ao CH₄ biogênico. Os valores de $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ e de $\delta\text{D}_{\text{CH}_4}$ do gás termogênico variam, aproximadamente, de -50 ‰ até -20 ‰ e -275 ‰ até -100 ‰, respectivamente. Por outro lado, para o metano de origem biogênica, os valores de $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ e de $\delta\text{D}_{\text{CH}_4}$ variam, aproximadamente, de -110 ‰ até -50 ‰ e -400 ‰ até -150 ‰, respectivamente (Fig. 4) (Whiticar, 1999).

Estas características isotópicas do gás constituem um ponto de partida importante para o estabelecimento da origem do metano na natureza, mas não são determinantes, já que existem várias condições que podem modificar as características isotópicas do CH₄ por meio de fracionamento e, conseqüentemente os

cenários interpretativos (Kotelnikova, 2002; Martini et al., 2003) podem depender de fatores como temperatura, disponibilidade de carbono na matéria orgânica precursora da biodegradação, migração e oxidação do gás ou até mesmo da via metabólica utilizada pelos micro-organismos metanogênicos (Whiticar, 1999). Além disso, grande parte dos ambientes propícios à biodegradação da matéria orgânica e geração de metano biogênico podem apresentar contexto geológico com condições de temperatura para a geração de metano termogênico. Nestes casos, é comum ocorrer a mistura de gases de ambas as origens, provocando miscibilidade nos dados isotópicos e dificuldade na discriminação de ambas as origens (Martini, et al., 1996; Martini, 1998).

Figura 4. Diagrama de classificação de CH_4 termogênico e biogênico por combinação de $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ em PDB e $\delta^{13}\text{D}_{\text{CH}_4}$ em (VSMOW). Modificado de Whiticar (1999).

Quando se considera a geração biogênica de gases em sistemas naturais de petróleo e gás, a geração de CH_4 pode ocorrer por biodegradação direta da matéria orgânica – metano biogênico primário, ou pode ocorrer a partir da biodegradação de petróleo – metano biogênico secundário. A assinatura isotópica do metano ($\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$) é geralmente considerada um fator importante no reconhecimento de origem do gás natural (Rice, 1993; Whiticar, 1999). A presença de metano com $\delta^{13}\text{C}$ abaixo de -50 ‰ e a baixa prevalência de hidrocarbonetos de cadeia mais longa (> 98% de CH_4) são comumente indicadores de gás biogênico primário (Schoell, 1980; Rice, 1993; Whiticar, 1999). No entanto, quando o CH_4 possui $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ entre -55 ‰ e -35 ‰ associado com dióxido de carbono (CO_2) com valores de $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ pesado (-10‰ a 30 ‰), sugere-se a presença de CH_4 de origem biogênica secundária (Milkov, 2011; Katz, 2011).

Se por um lado as acumulações de CH_4 constituem importantes fontes de energia em todo o mundo, por outro é apontado com um dos principais gases de efeito estufa, em conjunto com o dióxido de carbono (CO_2). Assim, compreender e quantificar as fontes de CH_4 e CO_2 biogênicos em ambientes sedimentares revela-se fundamental para estudos de mudanças climáticas, ciclos biogeoquímicos e acumulações de gás natural como recurso energético.

2.2.1. REQUISITOS DO MEIO PARA GERAÇÃO BIOGÊNICA DE CH_4

Hidrocarbonetos gasosos de origem biogênica (predominantemente compostos por metano $\geq 99\%$) são gerados como consequência direta da atividade microbiana e são normalmente gerados a baixa profundidade, até algumas dezenas de metros de acordo com Parkes et al. (1990).

A metanogênese que ocorre por ação biológica é um tipo de respiração anaeróbica em que um composto de carbono (como o CO_2) funciona como receptor de elétrons. Termodinamicamente, a metanogênese ocorrerá somente quando receptores de elétrons mais favoráveis estão ausentes e, por isso, o processo prevalece na ausência de sulfatos, nitratos, metais oxidados e, em especial, de oxigênio. Assim, a geração biogênica de CH_4 depende de condições anaeróbicas, mas também de espaço, substrato e ambientes com baixo teor de sulfato (Zinder, 1993;

Kotelnikova, 2002) e da temperatura do ambiente (Nozhevnikova et al., 2001; Pap et al., 2015).

Posto isto, a geração de CH_4 biogênico pode ocorrer em uma variedade de habitats anaeróbios, incluindo sedimentos marinhos e/ou fluviais, arrozais, biorreatores e digestores de lodo de esgoto, aterros sanitários, trato digestivo dos animais, e até em fontes hidrotermais (Stafford et al., 1980, Miller et al., 1988; Takai & Horikoshi, 1999; Ting et al., 2007; Ver-Eecke et al., 2012). Na maioria destes habitats, o ecossistema é anaeróbio e a metanogênese representa o passo final na decomposição da matéria orgânica. No entanto, em habitats como os de fontes hidrotermais, os substratos disponíveis às bactérias metanogênicas são na sua maioria compostos de H_2 e CO_2 , de origem inorgânica. Em cenários como estes, grande parte do metano gerado é reoxidado do CO_2 ou fica sequestrado em hidratos de metano (Campbell, 2006).

Dependendo da comunidade metanogênica presente em determinado ambiente, os requisitos para alcançar a taxa máxima de produção de metano biogênico também variam. Em relação ao substrato, algumas espécies microbianas utilizam H_2 e CO_2 como substrato e são denominadas hidrogenotróficas, pois consomem hidrogênio durante o metabolismo; bactérias acetogênicas são responsáveis pela conversão de muitos dos compostos orgânicos produzidos pelos micro-organismos acidogênicos em acetato e constituem a população preferencial em biodigestores, onde cerca de 70% da produção de CH_4 nos reatores ocorre por consumo de acetato (Liu et al., 2008; Westerholm et al., 2016).

A competição com outros grupos de micro-organismos pode ser outro fator limitante para a geração de metano biogênico. Estudos sugerem que archaeas metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato (SBR) são mutuamente exclusivas devido à competição por substratos de carbono (Choi et al., 1991; McCartney & Oleszkiewicz, et al., 1993; Dar et al., 2008). Na ausência de sulfato, as SRB podem desempenhar um papel na quebra da matéria orgânica em substratos metanogênicos (Raskin et al., 1996). No entanto, os dois processos podem ocorrer simultaneamente, dependendo das condições redox e disponibilidade de substratos. Nesse caso, o domínio de uma determinada classe de micro-organismos depende de muitos fatores, como a concentração de H_2 , que também controlam a produção e oxidação de CH_4 em condições anaeróbicas.

Geração biogênica de CH_4 depende da biodisponibilidade de matéria orgânica (MO) facilmente degradável. Em contextos de bacia sedimentares, o aumento da profundidade inviabilizaria os compostos orgânicos à biodegradação devido à limitação da vida provocada pelo aumento da temperatura (Wellsbury, 1997; Head, 2003; Strapoc, 2010; Robbins et al., 2016).

Ainda que maioria das espécies metanogênicas conhecidas sejam mesófilas, ou seja, a temperatura ambiente proporciona as melhores condições de vida, existem também espécies que se desenvolvem melhor a altas temperaturas – hipertermófilas – e também a temperaturas mais baixas – psicrófilas (Kotelnikova, 2002; Levén et al., 2007). A produção biogênica de CH_4 é comum em depósitos de folhelhos orgânicos a temperaturas inferiores a 80°C (Jin, 2010; Pfeiffer, 2010), mantendo correlação positiva com a profundidade na maioria das bacias sedimentares (McIntosh, 2008; Martini, 2008; Golding, 2013). A relação entre metanogênese e profundidade não é controlada apenas pela temperatura, mas também depende da recarga de água subterrânea natural que favorece a metanogênese pelo transporte de micro-organismos para reservatórios ricos em compostos orgânicos e proporciona a umidade necessária para a atividade microbiana, bem como diminuição da salinidade (Martini et al., 1996; McIntosh, 2008; Strapoc, 2010; Zhang, 2012; Jones, 2013).

Identificar a influência relativa de cada um dos fatores acima citados em determinada acumulação de metano pode ser um desafio. No entanto, é necessário para a compreensão dos processos biogeoquímicos de formação de CH_4 , do seu fluxo para atmosfera assim como para a ecologia de micro-organismos no subsolo.

2.2.2. IMPORTÂNCIA DA TEMPERATURA NA GERAÇÃO BIOGÊNICA DE CH_4

A biodegradação da matéria orgânica e geração de CH_4 biogênico associado ao processo de metanogênese pode ocorrer em qualquer ambiente com disponibilidade de substrato orgânico e em condições anóxicas. Como já descrito, a comunidade microbiana depende de condições ambientais específicas e a temperatura representa um dos parâmetros mais importantes à adaptação microbiana, pois influencia

fortemente na seleção e desempenho dos micróbios metanogênicos (Nozhevnikova et al., 2001; Pap et al., 2015).

Em ambientes de clima temperado ou polar, como regiões de *permafrost*, ou em sedimentos de lagos profundos, a biodegradação de compostos orgânicos e consequente geração de CH₄ ocorre pela ação de metanógenos psicrófilos, eficientes em temperaturas próximas a 25°C e limitados a temperaturas até 40°C (Dunfield et al., 1993; Nozhevnikova et al., 2001). Já a metanogênese em resíduos sólidos, como aquela que acontece em aterros sanitários ou biodigestores, ocorre preferencialmente em condições termófilas, 50°C a 60°C, sendo limitada a 70°C (Song et al., 2004; Chae et al., 2008). Em ambientes profundos de maior temperatura, como a biodegradação de petróleo em reservatórios convencionais, a maioria dos micro-organismos são hipertermófilos e o processo de biodegradação ocorre a alta temperatura, 70°C (Zekri et al., 2005).

Dada a influência da temperatura na adaptação da comunidade metanogênica e na consequente metanogênese, é importante entender como a temperatura pode influenciar a geração de metano biogênico em unidades sedimentares ricas em matéria orgânica e de que forma o ambiente pode ter influenciado na seleção de micro-organismos em contextos de bacias sedimentares, onde a temperatura pode variar consideravelmente ao longo da evolução e soterramento da bacia.

2.2.3. SISTEMA BIOGÊNICO DE CH₄

A geração de gás biogênico não convencional pode ocorrer em dois sistemas separados. O sistema de geração precoce caracteriza a geração de gás logo após a deposição da matéria orgânica, com sedimentos ainda inconsolidados. Se reunidas condições anóxicas, a decomposição de matéria orgânica se inicia e consequentemente a ação de micróbios metanogênicos. Por outro lado, se a metanogênese acontece em um intervalo de tempo grande após a deposição do sedimento, como é comum em reservatório de petróleo ou folhelhos (sedimentos consolidados por soterramento), é designado como sistema de geração tardia.

A ação de micro-organismos em sistemas precoces de geração biogênica de CH₄ comumente deixam impressões na matriz mineral que acompanham o seu

desenvolvimento, quer por precipitação de minerais bio-induzidos como por assinatura isotópica (Whiticar, 1999).

2.3. A FORMAÇÃO IRATI COMO UNIDADE GERADORA DE HIDROCARBONETOS – BACIA DO PARANÁ

A Bacia do Paraná é uma extensa bacia intracratônica (do tipo sinéclise) desenvolvida em crosta continental e preenchida por rochas sedimentares e vulcânicas. Localizada na América do Sul, a referida bacia ocupa uma área de 1.400.000 km², estendendo-se pelo Brasil (1.100.000 km²), metade oriental do Paraguai, metade ocidental do Uruguai e na região ocidental da Argentina, onde é designada Bacia Chaco-Paraná (Zalán, 1990b). A formação da Bacia do Paraná teve início há aproximadamente 400 milhões de anos, no Siluriano, no interior cratônico do Gondwana, como resultado da flexura litosférica por sobrecarga, associada a cinturões colisionais (Gondwanides), gerados pela convergência entre o Gondwana e a litosfera oceânica do Panthalassa durante o Fanerozóico (Milani, 1997). A sua formação culmina com vulcanismo intenso no início do Cretáceo – magmatismo Serra Geral, que define a maior manifestação ígnea não oceânica durante o Fanerozóico, representada por uma espessa cobertura de derrames – Formação Serra Geral, *sills* e uma rede intrincada de diques que cortam o extenso pacote sedimentar da bacia (Araújo, 2000).

O intenso magmatismo Cretáceo afetou fortemente a evolução térmica da Bacia do Paraná bem como a geração de hidrocarbonetos, em rochas geradoras da Formação Irati (Permiano), resultando em sistema petrolífero atípico (Araújo, 2000), proporcionando um ambiente térmico suficiente para a geração de petróleo leve e gás na borda atual da bacia (Nomura et al., 2014). O sistema petrolífero Irati-Pirambóia é caracterizado por processos sincrônicos de geração e migração de petróleo durante o evento magmático Serra Geral (138-127Ma), diferenciando-se de sistemas de outras bacias convencionais onde a maturação térmica é controlada pelo soterramento (Tissot & Welte, 1984). Além da sua maturação térmica atípica, a Formação Irati tem uma particularidade interessante já que ao mesmo tempo que se caracteriza como rocha geradora desse sistema convencional de hidrocarbonetos, é também um

sistema petrolífero não convencional, devido à ocorrência de folhelhos betuminosos (Nicolini et al., 2011) e gás natural (Bertassoli Jr et al., 2016).

Os folhelhos betuminosos da Formação Irati caracterizam-se pela cor escura, ricos em matéria orgânica, podendo conter localmente restos de peixes, répteis e troncos silicificados. Do ponto de vista litológico, a Formação Irati varia de acordo com a sua posição relativamente ao Arco Ponta Grossa. A norte do arco, ocorre uma intercalação de folhelhos orgânicos com os níveis calcários (Membro Assistência), enquanto a sul do arco a Formação Irati ocorre exclusivamente como folhelho orgânico (Membro Taquaral). Ainda assim, a espessura da Formação Irati, como um todo, varia de 5 a 10 m nas margens da bacia e pode atingir até 70 m no depocentro (Hachiro, 1996). A matéria orgânica é representada por querogênio do tipo I, com índice de hidrogênio elevado, e o teor de carbono orgânico varia entre 8 e 13%, com picos de até 24% (Milani, 2007; EIA/ARI, 2013).

2.3.1. EVIDÊNCIAS DE GERAÇÃO DE CH₄ BIOGÊNICO NA FORMAÇÃO IRATI

Apesar da sua composição litológica variar ao longo da bacia, em termos gerais, a Formação Irati é composta por folhelhos betuminosos, siltitos, dolomitos e calcários (Milani, 2007). É subdividida em duas unidades estratigráficas, denominadas membros Assistência e Taquaral (Hachiro et al., 1993). O Membro Taquaral, base da sedimentação Permiana, é composta por folhelho betuminoso, sotoposta ao Membro Assistência que aflora apenas na região norte do arco de Ponta Grossa. O Membro Assistência é composto por intercalação rítmica de dolomito e folhelho, com níveis ou camadas cuja espessura varia de milímetros a centímetros. Pontualmente, é reconhecida a presença de pirita em ambos os membros.

A presença exclusiva dos níveis carbonáticos a norte do Arco Ponta Grossa foi durante vários anos atribuída a presença de níveis de estromatólitos na borda da bacia que serviriam como fonte do carbonato do Membro Assistência (Suguio et al., 1985) teoria que ainda hoje é considerada por alguns autores (Rohn et al., 2015). No entanto, trabalho recente relaciona a precipitação dos níveis dolomíticos do Membro Assistência com ação microbial (Calça et al., 2016). Para estes autores, a

dolomitização precoce no início da digênese foi fortemente influenciada pela presença de EPS (*Extracellular Polymeric Substances*) como fonte precursora de Ca^{2+} e Mg^{2+} ao ambiente. Os autores reconhecem ainda a participação de SBR (*sulfate-reducing bacteria*) nos estágios de decomposição microbiana, que seriam responsáveis pela precipitação de pequenos cristais de pirita. Estudo desenvolvido por Méndez-Duque (2012) na Formação Teresina, unidade representante do final do Permiano na Bacia do Paraná, reconheceu a existência de estruturas orgânicas extremamente bem preservadas de EPS. Para a autora, a presença de níveis dolomíticos estariam também intimamente relacionados com bio-indução, onde os biofilmes corresponderiam a finas lâminas de calcita-dolomita precipitadas.

Próximo ao município de Paraisolândia, Estado de São Paulo, ocorrem estruturas sedimentares na forma de domos alinhados (com direção NE-SW) interpretados como estruturas do tipo *seep* (Matos et al., 2017; Warren et al., 2017). *Seeps* são estruturas que resultam da migração de hidrocarbonetos até a superfície, em locais designados como *cold seeps* no fundo oceânico (Boetius et al., 2013), que precipitam na forma de domos microbialíticos carbonatados, durante a oxidação de metano e redução de sulfato (Boetius et al., 2000). A gênese de estruturas sedimentares e sua preservação em *seeps* tem sido objeto de discussão (Peckmann et al., 2001; Peckmann et al., 2004). Estudo detalhado dessas estruturas na Formação Irati, desenvolvido por Warren et al. (2017) aponta para uma origem biogênica do gás metano, tendo em conta a assinatura isotópica dos carbonatos, típica de atividade metanogênica, assim como presença de material microbiano - EPS - e pirita framboidal, característica de ação de SBR (Campbell et al., 2001; Cavalazzi et al., 2012). Estruturas semelhantes foram encontradas nas Formações Serra Alta e Teresina (Matos et al., 2012) unidades que também compõem a sucessão permiana da Bacia do Paraná.

Warren et al. (2017) desenvolveu um estudo geoquímico dos depósitos carbonáticos da Formação Irati interpretados como *seeps*. A assinatura isotópica dos carbonatos revelou valores de $\delta^{13}\text{C}$ médios em torno de -2.4‰ e $\delta^{18}\text{O}$ de -6.8‰ (ambos em VPDB), sugestivos de atividade metanogênica (Campbell, 2006). Valores semelhantes foram obtidos para os depósitos interpretados como *seeps* na Formação Serra Alta, com $\delta^{13}\text{C}$ próximos de -7‰ e $\delta^{18}\text{O}$ variando entre -1.6‰ e -5.9‰ (Matos et al., 2017).

Estudo detalhado desenvolvido por Faure et al. (1999), que trata da geoquímica de folhelhos permianos que ocorrem em bacias do sudoeste do Gondwana, como é o caso da Bacia do Paraná, sugere ambiente de floração (*bloom*) microbial devido aos valores de $\delta^{13}\text{C}$ anormalmente enriquecidos (superiores a $-17,6\text{‰}$) no topo da Formação Irati e das formações Whitehill e Black Rock, da Bacia Main Karoo e Falkland Island, respetivamente. Resultados similares de assinatura isotópica em unidades permianas das bacias de Sydney e Bowen, na Austrália, colocam estas formações na posição de maior manifestação microbial preservada na Terra ($\sim 5.000.000 \text{ km}^2$), tratando este ambiente microbial como um episódio de grande escala e não apenas limitado à Bacia do Paraná.

Um dos aspectos mais controversos da história geológica da Bacia do Paraná diz respeito ao ambiente de sedimentação da Formação Irati. O ambiente de deposição foi descrito como marinho-transicional, tendo por base biomarcadores (Mello et al., 1993; Triguís et al., 1996), enquanto outros estudos sugerem condições lacustres (Corrêa da Silva et al., 1985; Faure et al., 1999). A precipitação de dolomita, que predomina nas rochas carbonáticas da Formação Irati, ocorre tipicamente quando águas meteóricas ricas em carbono inorgânico dissolvido se misturam como águas profundas ricas em Mg (Banerjee, 2016). No entanto, como proposto por (Calça et al., 2016) a dolomita precipitada na Formação Irati parece resultar da bio-indução originada pela simbiose de diversos micro-organismos, tais como cianobactérias (EPS), SBR e *archaeas* metanogênicas. Com a circulação da água e o abastecimento constante de água de superfície, as bactérias que fariam parte desta comunidade microbial teriam papel preponderante na geração biogênica de metano, sua oxidação e possível precipitação da dolomita (Calça et al., 2016). O papel da água na geração e acumulação de hidrocarbonetos tem sido amplamente estudado, principalmente devido ao crescente interesse na exploração de petróleo e gás a partir de níveis orgânicos de folhelhos (Lewan, 1997; Carr et al., 2009; Lewan et al., 2011). Se por um lado a presença de água parece induzir o craqueamento térmico da matéria orgânica e influenciar positivamente a geração e a expulsão de petróleo (Lewan, 1997), por outro a água pode ter papel importante na biodegradação de matéria orgânica e/ou petróleo. Assim, a água atua como variável importante na geração de metano biogênico em folhelhos orgânicos como os da Formação Irati, tanto pelo transporte de micro-organismos e diminuição da salinidade, como também pelo fornecimento de

nutrientes necessários para o crescimento microbiano (Martini et al., 1996; McIntosh, 2008; Strapoc, 2010; Jones, 2013).

Estudos recentes sugerem que a biodisponibilidade do material orgânico diminui com o aumento da maturidade térmica de sedimentos, na medida em que reduz a fração de porções biodegradáveis (Papendick et al., 2011; Robbins et al., 2016).

A maturidade térmica dos folhelhos da Formação Irati é altamente variável (imatura a supermatura) e para maioria dos estudos, os episódios de geração de hidrocarbonetos está relacionada ao magmatismo da Serra Geral (Araújo, 2000; Nomura, 2014; Teixeira, 2014). No entanto, outros estudos sugerem a existência de um sistema de hidrocarbonetos já no Permiano (Mateus et al., 2014; Matos et al., 2017), por combinação de gradiente geotérmico e eventos hidrotermais. Desta forma, a previsão da geração de hidrocarbonetos na citada formação é ainda desafiadora.

Relativamente à maturidade térmica, valores de reflectância de vitrinita em amostras de folhelho da Formação de Irati, revelam valores variando entre 0,44% e 1,29% (Souza et al., 2008). Próximo a intrusivas, o poder refletor das vitrinitas atingem até 2% (Araújo, 2000). Estudos de inclusões fluidas em veios carbonáticos e silicosos que ocorrem nas unidades permianas da Bacia do Paraná indicam paleotemperaturas entre 90 e 140°C (Nomura et al., 2014; Teixeira et al., submetido), que seriam compatíveis com maturidade térmica suficiente para geração de hidrocarbonetos líquidos e gasosos.

Estudo desenvolvido por Bertassoli Jr. et al. (2016) avaliou o potencial de geração de CH₄ biogênico por folhelhos da Formação Irati. Este estudo simulou condições ambientais e geológicas que afetam o metabolismo metanogênico e concluiu que a Formação de Irati possui elevado potencial para a geração deste tipo de metano. Além disso, Bertassoli Jr. et al. (2016) demonstra correlação negativa entre a geração de metano biogênico e o teor de carbono orgânico total (COT) para a Formação Irati, sugerindo que outros fatores limitantes, como acessibilidade de micro-organismos metanogênicos ou umidade, poderiam desempenhar papel na geração biogênica de CH₄.

2.4. MOTIVAÇÕES E OBJETIVOS DO ESTUDO

Como descrito na literatura, muitas questões relacionadas com a geração biogênica de metano em folhelhos ricos em matéria orgânica, se encontram ainda sem resposta.

Apesar de inúmeros autores já mencionarem a possibilidade da presença de quantidade significativa de CH_4 biogênico em acumulações de gás natural, tanto gerado por sistema biogênico precoce como tardio, outros autores sugerem que sistemas termogênicos são responsáveis pela formação das acumulações comerciais de gás natural em bacias sedimentares, sendo a parcela biogênica pouco significativa. No entanto, a prevalência de certa via de geração de CH_4 ou coexistência de sistemas biogênico e termogênico em bacias sedimentares tem a temperatura como fator crucial a ser analisado, já que bactérias hipertermófilas podem ocupar ambientes com temperaturas suficientes para geração de CH_4 termogênico.

Folhelhos orgânicos de bacias sedimentares passam por processos de evolução térmica complexos, tanto por soterramento como por ocorrência de eventos tectônicos e magmáticos, que provocam alterações significativas e pontuais no ambiente térmico.

Neste contexto, este trabalho visa responder a questões relacionadas com o efeito da temperatura na geração biogênica de CH_4 e CO_2 em folhelhos ricos em matéria orgânica. A evolução térmica atípica da Bacia do Paraná torna a Formação Irati um interessante alvo de estudo. Por outro lado, as formações Água de Madeiros e Vale das Fontes da Bacia Lusitânica (Portugal) apresentam folhelhos com baixa maturidade térmica, controlada por soterramento. Neste estudo, a avaliação da geração de CH_4 e CO_2 biogênicos considera o efeito da temperatura e da composição dos folhelhos nas taxas de geração de CH_4 e CO_2 . Os objetivos do trabalho incluem:

- a) Realizar experimentos de incubação para avaliar taxas de geração de CH_4 e CO_2 sob temperatura crescente no sentido de reconhecer como as condições naturais de soterramento podem afetar a metanogênese – sistema biogênico precoce;
- b) Entender como a temperatura influencia na geração biogênica de gases em contexto de bacia sedimentares através da realização de testes de incubação em diferentes temperaturas – sistema biogênico tardio;

- c) Reconhecer a influência de compostos elementares maiores (S, Fe e Ca) na geração biogênica de CH_4 e CO_2 ;

Os capítulos que se seguem descrevem os métodos empregados, resultados, bem como discussões pertinentes e conclusões obtidas ao longo da pesquisa.

.

CAPÍTULO III – MATERIAIS E MÉTODOS

CAPÍTULO III

MATERIAIS E MÉTODOS

---

3. MATERIAIS E METODOS

3.1. COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de rocha foram coletadas em quatro afloramentos da Formação Irati em pedreiras e afloramentos ao longo de estradas. Seis amostras foram coletadas na borda leste da Bacia do Paraná no Estado de São Paulo, a norte do arco de Ponta Grossa e quatro amostras foram coletadas no Estado do Paraná, representantes da Formação Irati a sul do arco de Ponta Grossa (Fig.5). As superfícies dos afloramentos foram limpas para amostragem a fim de evitar zonas degradadas e alteradas. Aproximadamente 500 g de cada amostra de *shale* foram secas a temperaturas inferiores a 40°C para evitar mudanças nos componentes orgânicos. Após a secagem, as amostras foram trituradas em prensa e peneiradas para adquirir a fração de tamanho de grão inferior a 0,25 mm. Esta fração foi utilizada para análise de carbono orgânico total (COT), fluorescência de raio-x e experimentos de incubação.

Figura 5. Localização da Bacia do Paraná na plataforma Sul Americana (A); B) área de exposição da sequência permiana da Bacia do Paraná no Brasil C) Seção estratigráfica simplificada do sistema petrolífero Irati-Pirambóia

As estrelas representam pontos de amostragem;

Adaptado de Calça, 2014

3.2. ANÁLISE DE COT E FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X

Cerca de 10 g de cada amostra com tamanho de grão inferior a 0,25 mm foram separadas para análise de COT. Para isso, as amostras foram atacadas com ácido clorídrico 10% para eliminação do carbonato. A quantificação de COT foi conduzida em um Analisador Perkin Elmer 2400 CHN, na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Todas as amostras utilizadas para os testes de incubação foram submetidas a análise de fluorescência de raios-x para determinação de teores

de elementos maiores. Isto teve como objetivo avaliar se a variação composicional pode afetar a metanogênese. Após os experimentos de incubação (item 3.3), as amostras foram retiradas de frascos e secas em estufa durante 24h a 40°C e re-submetida a análise de fluorescência de raios-X.

As análises de fluorescência de raios-X foram realizadas com analisador portátil de raio-X FRX (S1 Titan Model 600).

3.3. EXPERIMENTOS DE INCUBAÇÃO

Foram desenvolvidos experimentos de incubação para avaliar a influência da temperatura na geração biogênica de metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) em ambiente controlado. Os experimentos foram realizados sob temperaturas de 22°C, 50°C, 70°C e 80°C para simular condições superficiais e em profundidade. As amostras de folhelho pulverizadas (<0,25mm) foram divididas em triplicatas de 15 g cada e dispostas em frascos de vidro (100 ml) com 20 ml de água deionizada. Os frascos foram então selados com rolhas butílicas e lacres de alumínio. Os frascos foram evacuados e preenchidos com N_2 para simular condições anóxicas, essenciais a atuação de metanogênicas. No decorrer dos experimentos, os vials foram armazenados protegidos da luz evitando agitação para não comprometer a comunidade (Dannenberg, et al., 1997). A amostragem de gás para analisar as concentrações de CH_4 e CO_2 foi realizada por meio da injeção de 3ml de N_2 no interior dos *vials* e posterior retirada de igual volume, de forma a garantir a constância de volume de gás dentro dos frascos. A concentração dos gases foi medida sete vezes por cada temperatura de incubação. As amostras foram mantidas por aproximadamente 30 dias a cada temperatura.

O cálculo das concentrações de CH_4 e CO_2 incluiu fatores de diluição devido à re-injeção de nitrogênio durante a amostragem de gás. As concentrações de CH_4 e CO_2 foram determinadas utilizando cromatografia de gás em cromatógrafo Thermo-Scientific Trace 1310 (GC) com detector de ionização de chama (FID) com metanizador acoplado. A calibração do equipamento foi feita utilizando injeção de três padrões sintéticos com diferentes

concentrações de CH₄ e CO₂. O primeiro padrão foi de 1,519 ppm de CH₄ e 300,6 ppm de CO₂. O segundo foi de 3,048 ppm de CH₄ e 2514,0 ppm de CO₂ e o terceiro 50,590 ppm de CH₄ e 6007,0 ppm de CO₂. A injeção dos padrões para calibração foi feita no início e no final de cada medida para garantir a confiabilidade de dados, com o valor de R² entre 0.9999 e 1.0000 para todas as análises realizadas.

Dois experimentos independentes foram realizados para avaliar a influência da temperatura na produção biológica de CH₄ e CO₂. Em um primeiro experimento, as amostras foram incubadas em temperaturas específicas para avaliar as taxas de geração de CH₄ e CO₂ biogênicos. Para isso, três amostras de folhelho (NA02, PR05 e PT01) e uma amostra de calcário com petróleo (IP01) foram incubadas em triplicata a temperaturas de 22°C, 50°C, 70°C e 80°C. O controle de temperatura foi feito armazenando os *vials* em estufa digital. As taxas de produção de CH₄ e CO₂ sob cada temperatura foram avaliadas por cerca de 30 dias. No segundo experimento, as taxas de produção de CH₄ e CO₂ foram avaliadas sob aumento progressivo de temperatura. Este experimento teve como objetivo simular condições de aquecimento progressivo, análogas ao soterramento ou efeito térmico de corpos ígneos. Assim, a geração de CH₄ e CO₂ ocorreu sob alteração térmica progressiva de substratos. As amostras foram incubadas à temperatura ambiente (22°C) e sujeitas a uma mudança de temperatura após 30 dias, sem alterações no ambiente de microcosmos, ou seja, sem adição ou troca de amostras ou renovação da atmosfera dos vials (*headspace*). A estabilidade das diferentes temperaturas foi igualmente garantida com o uso de estufa com controle digital de temperatura.

3.4. ANÁLISE DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE CARBONO EM CH₄ E CO₂

Após o término dos experimentos, amostras de *headspace* foram coletadas e armazenadas em *Exetainers* (marca Labco) previamente evacuados para análises de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de CH₄ e CO₂. Devido à reduzida

quantidade de amostra, as análises foram desenvolvidas no laboratório de isótopos estáveis da UCDavis – Califórnia.

As proporções de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em CH_4 e CO_2 foram medidas usando espectrômetro de massa de razão isotópica ThermoScientific Delta V Plus – EA-IRMS acoplado a um concentrador automatizado de gás (Thermo-Scientific PreCon), que permite a análise em volume reduzido de amostra. Os valores finais de $\delta^{13}\text{C}$ foram entregues expressos em relação aos padrões internacionais V-PDB (Vienna PeeDee Belemnite).

3.5. CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILME E MINERAIS AUTIGÊNICOS POR MICROSCOPIA ÓPTICA E ELETRÔNICA E DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

O biofilme e matéria mineral formados durante os experimentos de incubação foram extraídos dos frascos de vidro. Estes materiais foram coletados no final dos experimentos realizados a cada temperatura. O topo do frasco de vidro foi cortado e a amostra foi retirada com auxílio de espátula, de forma a garantir a integridade dos cristais autigênicos e biofilme. Desse material, foram preparadas lâminas para análise por microscopia óptica e eletrônica de varredura (com e sem recobrimento). Além disso, uma pequena porção foi separada para análise de difração de raios-X para determinação mineralógica.

Seções delgadas foram montadas com o biofilme removido do interior dos frascos de vidro. O estudo deste material por microscopia óptica foi realizado no Laboratório de Petrografia Sedimentar do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo (IGc-USP), em um microscópio petrográfico ZEISS, modelo AXIOPLAN 2, com fonte de luz refletida e transmitida e equipado com câmera Leica® Qwin 550TM e software de processamento e visualização de imagens Leica® Qwin®.

Além da análise por microscopia óptica, a fração mineral da mesma amostra foi submetida a análise de difração de raios-X no Laboratório Difração de Raio-X (LDRX) do IGc-USP. As amostras foram pulverizadas para montagem em lâminas de vidro e difratogramas foram obtidos em equipamento D8 Advance

(Brucker) com um tubo de Cu ($K\alpha$) na faixa de 5° a 70° (2θ), passo de $0,020$ (2θ) e $0,5$ seg por passo. Os dados foram analisados com o programa DIFFRAC eva 4.2. O banco de dados utilizado foi PDF2001 (ICDD s.d.).

As amostras também foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para investigar a morfologia dos compostos orgânicos e sua relação com os minerais autigênicos.

Primeiramente, o material foi analisado sem recobrimento em baixo vácuo, para garantir a integridade tanto do biofilme como dos minerais autigênicos. As imagens foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura Ambiental de Pressão Variável (EVPESEM), da marca FEI, modelo Quanta 250, equipado com espectrômetro de energia dispersiva de Raio-X, do tipo seco, com detector de estado sólido de Si(Li) da marca Oxford Instruments, Ltd. e controlado por software Inca 300. A pressão da câmara foi de 60 mbar e tensão de trabalho (EHT) de 20 kV.

Além disso, uma nova sessão foi elaborada com a amostra recoberta com carbono, em equipamento de maior vácuo, permitindo maior aumento e detalhe nas imagens. Para isso foi utilizado microscópio eletrônico de varredura da marca LEO Electron Microscopy Ltd, modelo LEO 440i, equipado com espectrômetro de Energia Dispersiva de Raio-X, detector de estado sólido de Si(Li) da marca Oxford Instruments Ltd, e controlado por software Inca 300. A tensão de trabalho (EHT) utilizada foi de 20 kV à distância (WD) de 4 mm.

3.6. MEDIDAS DE PH

Durante os experimentos de incubação, os valores de pH da fase aquosa foram determinados no início e no final de cada experimento. Para evitar influências externas, no final de cada experimento a diferentes temperaturas, os frascos foram abertos para medidas de pH. Os valores de pH foram obtidos por escala colorimétrica, com utilização de papel de tornassol. O volume reduzido da fase aquosa impediu o uso de eletrôdos para medidas de pH.

CAPÍTULO VI – CONCLUSÕES

CAPÍTULO VI

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

O presente estudo identificou a produção significativa de CH_4 e CO_2 na Formação Irati, que é a unidade de folhelho de maior importância do Brasil, considerando seu conteúdo de COT e distribuição geográfica.

A temperatura destaca-se dentre os fatores que podem afetar a geração biogênica de CH_4 e CO_2 em subsuperfície. Este trabalho constitui o primeiro estudo que avaliou o efeito da temperatura na produção desses gases em folhelhos da Formação Irati na Bacia do Paraná e folhelhos das formações Água de Madeiros e Vale das Fontes da Bacia Lusitânica - Portugal.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que além da temperatura e do teor de carbono orgânico, outros fatores parecem influenciar a atuação da comunidade metanogênica nas taxas de produção de CH_4 , como a composição química e mineralógica da matriz rochosa.

Além da elevação da temperatura (22°C a 80°C) favorecer a ação de bactérias metanogênicas no substrato orgânico e geração combinada de CH_4 e CO_2 , também tem papel fundamental na solubilização de minerais e alteração da composição química do meio. Nos experimentos realizados, a elevação da temperatura proporcionou a solubilização de sulfetos e carbonatos e o crescimento de cristais de gipsita. A geração de CH_4 sob estas condições sugere a presença de bactérias extremofílicas, como por exemplo *A. Ferroxidans*, as quais são mais eficientes a temperaturas elevadas e capazes de suportar ambientes extremamente ácidos. Assim, e de uma forma generalizada, amostras ricas em S mantêm uma predisposição mais elevada para geração biogênica de CH_4 , e CO_2 , por propiciarem o desenvolvimento de ambientes ácidos e consequentemente selecionar microrganismos capazes de atuarem em ambientes extremos, como as metanogênicas, eliminando a competição pelo substrato. Em contrapartida, ambientes ricos em Ca que pelas suas

propriedades alcalinas, transformam o meio perfeito para a atuação de inúmeras bactérias competidoras pelos substratos de carbono, diminuindo o potencial de geração de CH₄ e CO₂.

A concordância da resposta da geração biogênica com a elevação da temperatura, para os níveis orgânicos da Bacia Lusitânica, cuja matéria orgânica é mais imatura (Ro=0,45%) relativamente à Formação Irati, sugere que a geração biogênica de CH₄ é favorecida por temperaturas mais elevadas, no mínimo 80°C, confirmando janela de temperatura para geração de CH₄ biogênico em bacias sedimentares mais ampla do que se pensava até então, sendo que a metanogênese pode ocorrer ativamente até, no mínimo, 80°C de temperatura. Assim, em unidades sedimentares de folhelhos, as comunidades metanogênicas seriam majoritariamente hipertermófilas.

O estudo desenvolvido para as amostras da Bacia Lusitânica permitiu também alertar para o facto de que, mesmo com baixa produção de CH₄ biogênico, é possível gerar quantidades alarmantes de CO₂ como co-produto da metanogênese, em condições de alta temperatura (min. 80°C) abrindo espaço para importante discussão de contribuição de gases biogênicos para o *budget* mundial de carbono.

No entanto, vale ressaltar a importância de estudos microbianos para caracterizar a comunidade metanogênica presente nas amostras estudadas, tanto da Formação Irati como das formações Água de Madeiros e Vale das Fontes.

Os desenvolvimentos dos experimentos laboratoriais cumpriram o esforço de simular as condições naturais das bacias, no sentido de obter um valor o mais próximo possível do real. Ainda assim, a extrapolação direta da produção de CH₄ e CO₂ em incubações para taxas medidas à escala de bacias não é aconselhável, uma vez que as condições geológicas e naturais, como falhas, porosidade, etc., variam ao longo da bacia, o que pode influenciar diretamente o consórcio microbiano, bem como a disponibilidade do substrato. No entanto, essa limitação não deve impedir grandes relações entre as características dos níveis orgânicos (folhelhos) e as produções biogênicas de CH₄ e CO₂ encontradas neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, L., Triguís, J., Cerqueira, J., & Freitas, L., 2000. The Atypical Permian Petroleum System of the Paraná Basin, Brazil. *AAPG Mem.*, 73, pp. 377-402.
- Baath, E., 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water, Air and Soil Pollution*, 47, pp. 335-379.
- Banerjee, A., 2016. Estimation of dolomite formation: Dolomite precipitation and dolomitization. *Journal of the Geological Society of India*, 87, pp. 561-572.
- Bertassoli Jr, D., Sawakuchi, H., Almeida, N., Castanheira, B., Alem, V., Camargo, M., . . . Sawakuchi, A., 2016. Biogenic methane and carbon dioxide generation in organic-rich shales from southeastern Brazil. *Int. J. Coal Geol.*, 162, pp. 1-13.
- Boetius, A., & Wenshofer, F., 2013. Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps. *Nature Geosciences*, 6, pp. 725-734.
- Boetius, A., Ravensschlag, K., Schubert, C., Rickert, D., Widdel, F., Gieseke, A., . . . Pfannkuche, O., 2000. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane. *Nature*, 407, pp. 623-626.
- Calça, C. P., Fairchild, T. R., Cavalazzi, B., Hachiro, J., Petri, S., Huila, M. F., . . . Araki, K., 2016. Dolomitized cells within chert of the Permian Assistênica Formation, Paraná Basin, Brazil. *Sedimentary Geology*, 335, pp. 120-135.
- Campbell, K. A., 2006. Hydrocarbon seep and hydrothermal vent paleoenvironments and paleontology: Past developments and futures research directions. *Palaeogeography, Palaeoclimatology Palaeocology*, 232, pp. 362-407.
- Campbell, K., Farmer, J., & Des Marais, D., 2001. Ancient hydrocarbon seeps from the Mesozoic convergent margin of California. *Carbonate geochemistry, fluids and paleoenvironments: Geofluids*, 2, pp. 63-94.
- Carr, A. D., Snape, C., Meredith, W., Uguna, C., Scotchman, I., & Davis, R., 2009. The effect of water pressure on hydrocarbon generation reaction: some inferences from laboratory experiments. *Lyell Collection - Geological Society Publications*, 15, pp. 17-26.
- Cavalazzi, B., Barbieri, R., Cady, S., George, A., Gennaro, S., Lui, A., . . . Taj-Eddine, K., 2012. Iron-framboids in the hydrocarbon-related Middle Devonian Hollard Mound of the Anti-Atlas mountain range in Morocco: evidence of potential microbial biosignatures. *Sedimentary Geology*, 263-264, pp. 183-193.
- Chae, K., Jang, A., Yim, S., & Kim, I., 2008. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, 99, pp. 1-6.
- Choi, E., & Rim, J., 1991. Competition and inhibition of sulfate reducers and methane reducers in anaerobic treatment. *Water Sci. Technol.*, 23, pp. 1259-1264.

- Colosimo, F., Thomas, R., Lloyd, J. R., Taylor, K. G., Boothman, C., Smith, A. D., . . . Kalin, R. M., 2016. Biogenic methane in shale gas and coal bed methane: A review of current knowledge and gaps. *International Journal of Coal Geology*, 165, pp. 106-120.
- Corrêa da Silva, Z., & Cornford, C., 1985. The Kerogen type, depositional environment and maturity of the Irati Shale, Upper Permian of Paraná Basin, Southern Brazil. *Org. Geochem.*, 8, pp. 399-411.
- Dannenberg, S., Wudler, J., & Conrad, R., 1997. Agitation of anoxic paddy soil slurries affects the performance of the methanogenic microbial community. *FEMS Microbial. Ecol.*, 22, pp. 257-263.
- Dar, S. A., Kleerebezem, R., Stams, A. J., Kuenen, J., & Muyzer, G., 2008. Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78, pp. 1045-1055.
- Duarte, L., & Soares, A., 2002. Litostratigrafia das series margo-calcárias do Jurássico Inferior da Bacia Lusitânica (Portugal). *Comunicações do Instituto Geológico e Mineiro*, 89, pp. 135-154.
- Duarte, L., Silva, R., Mendonça Filho, J., Poças Ribeiro, N., & Chagas, R., 2012. High-resolution stratigraphy, palynofacies and source rock potential of the Água de Madeiros Formation (lower Jurassic), Lusitanian Basin, Portugal. *Journal of Petroleum Geology*, 35, pp. 105-126.
- Dunfield, P., Knowles, R., Dumont, R., & Moore, T. R., 1993. Methane production and consumption in temperate and subarctic peat soils: response to temperature and pH. *Soil Biol. Biochem.*, 25, pp. 321-326.
- EIA/ARI., 2013,. *EIA/ARI World Shale Gas and Shale Oil Resource Assessment*.
- Etiope, G., & Klusman, R., 2002,. Geologic emissions of methane to the atmosphere. *Chemosphere*, 49, pp. 777-789.
- Etiope, G., & Klusman, R., 2010. Methane microseepage in drylands: soils is not always a CH₄ sink. *J. Integr. Environ. Sci.*, 7, pp. 31-38.
- Faure, K., & Cole, D., 1999. Geochemical evidence for lacustrine microbial blooms in the vast Permian Main Karoo, Paraná, Falklands Islands and Huab basins of southwestern Gondwana. *PALAEO*, 152, pp. 189-213.
- Fey, A., Jeong, K., & Conrad, R., 2001. Thermophilic methanogens in rice field soil. *Environmental Microbiology*, 3, pp. 295-303.
- Gao, L., Brassel, S., Mastalerz, M., & Schimmelmann, A., 2013. Microbial degradation of sedimentary organic matter associated with shale gas and coalbed methane in eastern Illinois Basin (Indiana), USA. *Int. J. Coal Geol.*, 107, pp. 152-164.

- Gasparik, M., Ghanizadeh, A., Bertier, P., Gensterblum, Y., Bouw, S., & Krooss, B., 2012. High-pressure methane sorption isotherms of black shales from Netherlands. *Energy Fuel*, 26, pp. 4995-5004.
- Golding, S., Boreham, C., & Esterle, J., 2013. Stable isotope geochemistry of coal bed and shale gas and related production waters: A review. *International Journal of Coal Geology*, 120, pp. 24-40.
- Hachiro, J., 1996. *O Subgrupo Irati (Tese de Doutorado)*. University of São Paulo, Brazil.
- Hachiro, J., Coimbra, A., & Matos, S., 1993. O carácter cronoestratigráfico da unidade Irati. *1º Simpósio sobre cronoestratigrafia da Bacia do Paraná-IGCE/UNESP*, (pp. 62-63). Rio Claro.
- Havukainen, J., Uusitalo, V., Niskanen, A., & Hörttnainen, M., 2014. Evaluation of methods for estimating energy performance of biogas production. *Renewable Energy*, 66, pp. 232-240.
- Head, I., Jones, D., & Larter, S., 2003. Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil. *Nature*, 426, pp. 344-352.
- Hose, L. D., Palmer, A. N., Palmer, M. V., Northup, D. E., Boston, P. J., & DuChene, H. R., 2000. Microbiology and geochemistry in a hydrogen-sulphide-rich karst environment. *Chemical Geology*, 169, pp. 399-423.
- Jin, H., Schimmelmann, A., Mastalerz, M., Pope, J., & Moore, T., 2010. Coalbed gas desorption in canisters: Consumption of trapped atmospheric oxygen and implications for measured gas quality. *International Journal of Coal Geology*, 81, pp. 64-72.
- Johnson, D. B., & Hallberg, K. B., 2005. Acid mine drainage remediation options: a review. *Science of The Total Environment*, 338, pp. 3-14.
- Jones, E., Harris, S., Barnhart, E., Orem, W., Clark, A., Corum, M., . . . Voytek, M., 2013. The effect of coal bed dewatering and partial oxidation on biogenic methane potential. *Int. J. Coal Geol.*, 115, pp. 54-63.
- Jones, E., Voytek, M. A., Corum, M., & Orem, W., 2010. Stimulation of methane generation from nonproductive coal by addition of nutrients or a microbial consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, pp. 7013-7022.
- Jones, E., Voytek, M., Warwick, P., Corum, M., Cohn, A., Bunnell, J., . . . Orem, W., 2008. Bioassay for estimating the biogenic methane-generating potential of coal samples. *Int. J. Coal Geol.*, 76, pp. 138-150.
- Kamalipour, M., Dehghani, A., Naseri, A., & Abbasi, S., 2017. Modeling of gypsum precipitation in homogeneous and heterogeneous gas reservoirs. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*.
- Kamalipour, M., Dehghani, S. ., & Abbasi, S. ,2016. Role of agitation and temperature on calcium sulfate crystallization in water injection process. *Petroleum Science & Engineering*.

- Katz, B. J., 2011. Microbial Processes and Natural Gas Accumulations. *The Open Geology Journal*, pp. 75-83.
- Klusman, R., & Jakel, M., 1998. Natural microseepage of methane to the atmosphere from Denver-Julesburg basin, Colorado. *J. Geophys. Res.*, 103.
- Kotelnikova, A., 2002. Microbial production and oxidation of methane in deep subsurface. *Earth-Science Review*, 58, pp. 367-395.
- Kruger, M., Van Berk, W., Arning, E., Jimenéz, N., Schovsbo, N., Straaten, N., & Schultz, H.-M., 2014. The biogenic methane potential of European gas shale analogues: results from incubation experiments and thermodynamic modelling. *Int. J. Coal Geol.*, 136, pp. 59-74.
- Kuivila, K., Murray, J., Devol, A., & Novelli, P., 1989. Methane production, sulfate reduction and competition for substrates in the sediments of Lake Washington. *Geochim. Cosmochim.*, 53, pp. 409-416.
- Kuuskraa, V., Stevens, S., Leeuwen, T. V., & Moodhe, K., 2011. *World Shale Gas Resources: An Initial Assessment*.
- Levén, L., Erickson, A. R., & Schnurer, A., 2007. Effect of process temperature on bacterial and archaeal communities in two methanogenic bioreactors treating organic household waste. *FEMS Microbiology Ecology*, 59, pp. 683-693.
- Lewan, M., 1997. Experiments on the role of water in petroleum formation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61, pp. 3691-3723.
- Lewan, M. D., & Roy, S., 2011. Role of water in hydrocarbon generation from type-I kerogen in Mahogany oil shale of the Green River Formation. *Organic Geochemistry*, 44, pp. 31-41.
- Liu, X., Xiong, J., & Liang, L., 2015. Investigation of pore structure and fractal characteristics of organic-rich Yanchang formation shale in central China by nitrogen adsorption/desorption analysis. *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, 22, pp. 62-72.
- Liu, Y., & Whitman, W., 2008. Metabolic, Phylogenetic and Ecological Diversity of the Methanogenic Archaea. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1125, pp. 171-189.
- Machel, H. G., 2001. Bacterial and thermochemical sulfate reduction in diagenetic settings - old and new insights. *Sedimentary Geology*, 140, pp. 143-175.
- Maier, S., R., T., & Raina, M., 2003. Impact of Metals on the Biodegradation of Organic Pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 111, pp. 1093-1101.
- Markowski, M., Bialobrzewski, I., Zielinski, M., Debowski, M., & Krzemieniewski, M., 2014. Optimizing low-temperature biogas production from biomass by anaerobic digestion. *Renewable Energy*, 69, pp. 219-225.
- Martini, A., Budai, J., Walter, L., & Schoell, M., 1996. Microbial generation of economic accumulations of methane within a shallow organic-rich shale. *Nature*, 383, pp. 155-158.

- Martini, A., Walter, L., & Budai, J., 1998. Genetic and temporal relations between formation waters and biogenic methane: Upper Devonian Antrim Shale, Michigan Basin, USA. *Geochim. Cosmochim.*, 62, pp. 1699-1720.
- Martini, A., Walter, L., & McIntosh, J., 2008. Identification of microbial and thermogenic gas components from Upper Devonian black shale cores, Illinois and Michigan basins. *Am. Assoc. Pet. Geol. Bull.*, 92, pp. 327-339.
- Martini, A., Walter, L., Ku, T., Budai, J., McIntosh, J., & Schoell, M., 2003. Microbial production and modifications of gases in sedimentary basins: A geochemical case study from a Devonian shale gas play, Michigan Basin. *Am. Assoc. Pet. Geol. Bull.*, 87, pp. 1355-1375.
- Mateus, A., Riccomini, C., Ferreira, E., & Tassinari, C., 2014. Permian-Triassic maturation and multistage migration of hydrocarbons in the Assistência Formation (Irati Subgroup), Paraná Basin: implication for the exploration model. *Brazilian Journal of Geology*, 44, pp. 355-360.
- Matos, S. A., Waren, L. V., Fursich, F. T., Alessandretti, L., Assine, M. L., Riccomini, C., & Simões, M. G., 2017. Paleocology and paleoenvironments of Permian bivalves of the Serra Alta Formation, Brazil: Ordinary suspension feeders or Late Paleozoic Gondwana seep organisms? *Journal of South American Earth Sciences*, 77, pp. 21-41.
- McCartney, D., & Oleszkiewicz, J., 1993. Competition between methanogens and sulfate reducers: effect of COD:sulfate ration and acclimation. *Water Environ. Res.*, 65, pp. 655-664.
- McIntosh, J., Martini, A., Petsch, S., Huang, R., & Nuesslein, K., 2008. Biogeochemistry of the Forest City Basin coalbed methane play. *International Journal of Coal Geology*, 76, pp. 111-118.
- Melikiglu, M., 2014. Shale gas: analysis of its role in the global energy market. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, 37, pp. 460-468.
- Mello, M., Koutsoukos, E., & Santos Neto, E. S., 1993. Geochemical and micropaleontological characterization of lacustrine and marine hypersaline environments from Brazilian sedimentary basins. *AAPG Stud. Geol.*, 37, pp. 17-34.
- Méndez, J., 2012. *Fácies Carbonáticas da Formação Teresina na Borda Centro-Leste da Bacia do Paraná (Dissertação de Mestrado)*. São Paulo.
- Meslé, M., Périot, C., Dromart, G., & Oger, P., 2013. Biostimulation to identify microbial communities involved in methane generation in shallow, kerogen-rich shales. *J. Appl. Microbil.*, 114, pp. 55-70.
- Middleton, R. S., Gupta, R., Hyman, J. D., & Viswanathan, H. S., 2017. The shale gas revolution: Barriers, sustainability and emerging opportunities. *Applied Energy*, 199, pp. 88-95.

- Milani, E., 1997. *Evolução tectono-estratigráfica da Bacia do Paraná e seu relacionamento com a geodinâmica fanerozóica do Gondwana Sul-Occidental (Tese de Doutorado)*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Milani, E., Henrique, J., De Melo, G., De Souza, P., Fernandes, L., & França, A., 2007. Bacia do Paraná. *Bol. Geociê. Petrobras*, 15, pp. 265-287.
- Milkov, A., 2011. Worldwide distribution and significance of secondary microbial methane formed during petroleum biodegradation in conventional reservoirs. *Org. Geochem.*, 42, pp. 184-207.
- Miller, J. F., Shah, N. N., Nelson, C. M., Ludlow, J. M., & Clark, D. S., 1988. Pressure and temperature effects on growth and methane production of the extreme thermophile *Methanococcus jannaschii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(12), pp. 3039-3042.
- Nedwell, D. B., 1999. Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. *FEMS Microbiology Ecology*, 30, pp. 101-111.
- Nicolini, J., Pereira, B., Pillon, C., Machado, V., Lopes W., de Andrade, J. & Mangrich, A., 2011. Characterization of Brazilian oil shale byproducts planned for use as soil conditioners for food and agro-energy production. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 90, pp. 112-117.
- Nomura, S., Sawakuchi, A., Bello, R., Méndez-Duque, J., Fuzikawa, K., Giannini, P., & Dantes, M., 2014. Paleotemperatures and paleofluids recorded in fluid inclusions from calcite veins from the northern flank of the Ponta Grossa dyke swarm: implications for hydrocarbon generation and migration in the Paraná Basin. *Mar. Pet. Geol.*, 52, pp. 107-124.
- Nozhevnikova, A., Simankova, M., Parshina, S., & Kotsyurbenko, O., 2001. Temperature characteristics of methanogenic archaea and acetogenic bacteria isolated from cold environments. *Water Science and Technology*, 44, pp. 41-48.
- Pacala, S., & Socolow, R., 2004. Stabilization wedges: solving the climate problem for the next 50 years with current technologies. *Science*, 305, pp. 968-972.
- Pap, B., Gyorkei, Á., Boboescu, I. Z., Nagy, I. K., Bíró, T., Kondorosi, É., & Maróti, G., 2015. Temperature-dependent transformation of biogas-producing microbial communities points to the increased importance of hydrogenotrophic methanogenesis under thermophilic operation. *Bioresource Technology*, 177, pp. 375-380.
- Papendick, S. L., Downs, K. R., Vo, K. D., Hamilton, S. K., Dawson, G. K., Golding, S. D., & Gilcrease, P. C., 2011. Biogenic methane potential for Surat Basin, Queensland coal seams. *International Journal of Coal Geology*, 88, pp. 123-134.
- Parkes, R., Cragg, B., Fry, J., Herbert, R., & Wimpenny, J.W.T., 1990. Bacterial biomass and activity in deep sediment layers from the Peru margins. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. A*, 331, pp. 139-153.

- Peckmann, J., & Thiel, V., 2004. Carbon cycling at ancient methane-seeps. *Chemical Geology*, 205, pp. 443-467.
- Peckmann, J., Gischler, E., Oschmann, W., & Reitner, J., 2001. An Early Carboniferous seep community and hydrocarbon-derived carbonates from the Harz Mountains. *Germany Geology*, 29, pp. 271-274.
- Pfeiffer, R. U., 2010. *US Pat. App. Patente Nº 12/751745*.
- Raskin, L., Rittmann, B., & Stahl, D., 1996. Competition and coexistence of sulfate-reducing and methanogenic populations in anaerobic biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, pp. 3847-3857.
- Rawlings, D. E., 2005. Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. *Microbial Cell Factories*, 4, pp. 1-15.
- Rawlings, D., & Tomonobu, K., 1994. Molecular Genetics of Thiobacillus Ferroxidans. *Microbial Review*, 58, pp. 39-55.
- Reinhart, D., & Townsend, T., 1997. *Landfill Bioreactor Design & Operation*. CRC press.
- Rice, D. D., 1993. Biogenic gas: controls, habitats, and resource potencial. *Futur. Energy Gases. U.S. Geol. Surv. Prof. Pap.*, pp. 583-606.
- Robbins, S. J., Evans, P.N., Esterle, J. S., Golding, S.D. & Tyson, G. W., 2016. The effect of coal rank on biogenic methane potencial and microbial composition. *International Journal of Coal Geology*, 154-155, pp. 2005-212.
- Rohn, R., Fairchild, T., & Dias-Brito, D., 2015. Microbialitos de Santa Rosa de Viterbo, Estado de São Paulo. Em T. R.-B. Fairchild, *Microbialitos do Brasil de Pré-Cambriano ao Recente* (pp. 55-87). Rio Claro: Um Atlas. UNESP-IGCE-UNESPetro.
- Schoell, M., 1980. The hydrogen and carbon isotopic composition of methane from natural gases of various origins. *Geochim. Cosmochim.*, 44, pp. 649-661.
- Schurr, G., & Ridgley, J., 2002. Unconventional shallow biogenic gas systems. *Am. Assoc. Pet. Geol. Bull.*, 7, pp. 190-194.
- Shaw, M. K., 1967. Effect of Abrupt Temperature Shift on the Growth of Mesophilic and Psychrophilic Yeasts. *Journal of Bacteriology*, 93, pp. 1332-1336.
- Silverman, M. P., 1967. Mechanism of Bacterial Pyrite Oxidation. *Journal of Bacteriology*, 94, pp. 1046-1051.
- Song, Y., Kwon, S.-J., & Woo, J., 2004. Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic and thermophilic digestion of sewage sludge. *Water Research*, 38, pp. 1653-1662.
- Souza, I. V., Filho, J. G., & Menezes, T. R., 2008. Avaliação do efeito térmico das intrusivas ígneas em um horizonte potencialmente gerador da Bacia do Paraná: Formação Irati. *Revista Brasileira de Geociências*, 38, pp. 138-148.

- Stafford, D., Hawkes, L., & Horton, R., 1980. *Methane production from waste organic matter*. United States: CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.
- Strapoc, D., Ashby, M., Wood, L., Levinson, R., & Huizinga, B., 2010. How Specific Microbial Communities Benefit the Oil Industry: Significant Contribution of Methyl/Methanol-Utilising Methanogenic Pathway in a Subsurface Biogas Environment. Em *Applied Microbiology and Molecular Biology in Oilfield Systems* (pp. 211-216). Netherlands: Springer.
- Suguio, K., & Sousa, S., 1985. Restos de mesossaurídeos na Formação Corumbataí, Permiano da Bacia do Paraná, no estado de São Paulo. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 57, pp. 339-347.
- Takai, K., & Horikoshi, K., 1999. Genetic Diversity of Archaea in Deep-Sea Hydrothermal Vent Environments. *Genetics*, 152, pp. 1285-1297.
- Teixeira, C., 2014. *Evolução térmica e paleofluidos dos folhelhos da formação Serra Alta na borda leste da Bacia do Paraná (Dissertação de Mestrado)*. Universidade de São Paulo.
- Ting, C., & Lee, D., 2007. Production of hydrogen and methane from wastewater sludge using anaerobic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, pp. 677-682.
- Tissot, B., & Welte, D., 1984. *Petroleum Formation and Occurrence*. Berlin Heidelberg New York Tokyo: Springer.
- Triguís, J., Araújo, L., França, A., & Winter, W., 1996. Depositional environment and sequence stratigraphic of the Irati Formation (Late Permian) Paraná Basin - Brazil. *5th Latin American Congress on Organic Geochemistry* (pp. 219-221). Cancun: Annals.
- U.S. Department of Energy., 2009. *Modern Shale Gas - Development in the United States: A Primer*. Oklahoma: National Energy Technology Laboratory.
- U.S. EIA., 2015. *Technically Recoverable Shale Oil and Shale Gas Resources: United Kingdom*. Washington: Independent Statistics & Analysis.
- U.S. EIA., 2017. *Annual Energy Outlook 2017-with projections to 2050*.
- Ver-Eecke, Butterfield, D., Huber, J., Lilley, M., Olson, E., Roe, K., . . . Holden, J., 2012. Hydrogen-limited growth of hyperthermophilic methanogens at deep-sea hydrothermal vents. *PNAS*, 109, pp. 13674-13679.
- Warren, L. V., Quaglio, F., Simões, M. G., Assine, M. L., Alessandretti, L., Luvizotto, G. L., . . . Stríkis, N. M., 2017. A Permian methane seep system as a paleoenvironmental analogue for the pre-metazoan carbonate platforms. *Brazilian Journal of Geology*, 47, pp. 722-733.
- Wellsbury, P., Goodman, K., Barth, T., Cragg, B., Barnes, S., & Parkes, R., 1997. Deep marine biosphere fuelled by increasing organic matter availability during burial and heating. *Nature*, 388, pp. 573-576.

- Westerholm, M., Moestedt, J., & Schurer, A., 2016. Biogas production through syntrophic acetate oxidation and deliberate operating strategies for improved digester performance. *Applied Energy*, 179, pp. 124-135.
- Whiticar, M., 1999. Carbon and hydrogen isotope systematics of bacterial formation and oxidation of methane. *Chem. Geol.*, 161, pp. 291-314.
- Wuebbles, D., & Hayhoe, K., 2002. Atmospheric methane and global change. *Earth Science Reviews*, 57, pp. 11-210.
- Yao, H., & Conrad, R., 2000a. Effect of temperature on reduction of iron and production of carbon dioxide and methane in anoxic wetland rice soils. *Biol Fertil Soil*, 32, pp. 135-141.
- Yu, D., Kurola, J. M., Lahde, K., Kymalainen, M., Sinkkonen, A., & Romantschuck, M., 2014. Biogas production and methanogenic archaeal community in mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion processes. *Journal of Environmental Management*, 143, pp. 54-60.
- Zalan, P. V., 2012. *O Potencial Petrolífero Brasileiro Além do Pré-Sal (Artigo de opinião)*.
Fonte: Geofísica Brasil
- Zalán, P., Wolff, S., Conceição, J., Marques, A., Astolfi, M., Vieira, I., & Appi, V., 1990. Bacia do Paraná. Em *Origem e evolução de Bacias Sedimentares* (pp. 135-164). Rio de Janeiro: Petrobrás.
- Zekri, A. Y., & Chaalal, O., 2005. Effect of temperature on biodegradation of crude oil. *Energy Sources*, 27, 223-244.
- Zhang, T., Ellis, G., Ruppel, S., Milliken, K., & Yang, R., 2012. Effect of organic-matter type and thermal maturity on methane adsorption in shale-gas systems. *Organic Geochemistry*, 47, pp. 120-131.
- Zielinska, M., Cydzik-Kwiatkowska, A., Zielinski, M., & Debowski, M., 2013. Impact of temperature, microwave radiation and organic loading rate on methanogenic community and biogas production during fermentation of dairy wastewater. *Bioresource Technology*, pp. 308-314.
- Zinder, S., 1993. Physiological ecology of methanogens. Em J. (Ferry, *Methanogenesis* (pp. 128-206). London: Chapman & Hall.