

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO

**DETERMINAÇÃO DE FEOPIGMENTOS, PROTEÍNAS
SOLÚVEIS E LIPÍDIOS EM SEDIMENTOS DA LAGOA
DO PERI, ILHA DE SANTA CATARINA - SC**

Dissertação submetida à Universidade
Federal de Santa Catarina como parte dos
requisitos para Obtenção do Grau de “Mestre
em Química”

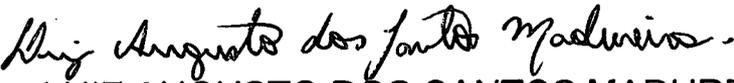
Renato Rodrigues Neto

Florianópolis
Santa Catarina - Brasil
Agosto de 1998

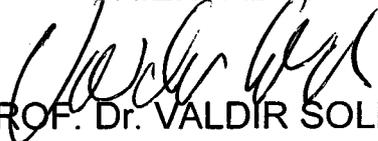
DETERMINAÇÃO DE FEOPIGMENTOS, PROTEÍNAS
SOLÚVEIS E LIPÍDIOS EM SEDIMENTOS DA LAGOA DO
PERI, ILHA DE SANTA CATARINA - SC

Renato Rodrigues Neto

Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador e membros da banca examinadora.


PROF. Dr. LUIZ AUGUSTO DOS SANTOS MADUREIRA

ORIENTADOR


PROF. Dr. VALDIR SOLDI

COORDENADOR

BANCA EXAMINADORA :


PROF^a. Dr^a. MARIA LÚCIA A. DE MOURA CAMPOS


PROF. Dr. EDUARDO JUAN SORIANO-SIERRA


PROF^a. Dr^a. MARIA MARTA DE SOUZA SIERRA

Aos meus pais Wanderley e Olimpia,
e a minha esposa Vânia

**O resto era o calado das pedras,
das plantas bravas que
crescem tão demorasas,
e do céu e do chão,
em seus lugares.**

(João Guimarães Rosa)

Agradecimentos

Aos amigos do Laboratório 216 : Louisiane, Beatriz, Marcelo Rosa, Marcelo Geovanela, Edson, Adaiane, Karine, André, Fábio, Morelatto e Marcos

Ao Prof. Dr. Claudemir pela valiosa ajuda nas análises de proteínas.

Ao Grupo de Busca e Salvamento de Florianópolis e ao Nemar (Valeu Simão !) pela ajuda nas coletas.

Ao pessoal da Biblioteca Setorial do CFM.

À dupla Jadir & Graça por tantos favores.

À Prof. Dra. Graça e ao seu grupo de pesquisa pela gentileza de ceder o Cromatógrafo e o Ultra-som.

À UFSC e ao Departamento de Química.

Ao CNPQ e a Capes pelo apoio financeiro a realização deste trabalho.

Ao Jaime e a Dayse pelo micro (Tomb Rider Now !)

Ao professor Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira pelo exemplo de orientação.

A minha esposa e a minha família pelo incentivo e apoio.

RESUMO

Com o objetivo de se avaliar biogeoquimicamente a origem e diagênese da matéria orgânica dos sedimentos de fundo da Lagoa do Peri, dois testemunhos foram coletados e fatiados em intervalos de 3 cm, ao longo dos primeiros 15 cm, e em intervalos de 5 cm até o final de cada um deles. Em seguida, analisou-se os lipídios, proteínas solúveis, feopigmentos, C, N e H presentes nestes testemunhos. Para se interpretar os resultados obtidos, foram utilizadas razões tais como: C/N e H/C, razões entre as concentrações dos ácidos graxos de origem terrestre e aquática (RTA), e Índices de Preferência de Carbono (IPC). De acordo com os resultados das razões utilizadas, pode-se dizer que desde a interface sedimento-água até aproximadamente 45cm de profundidade, a origem da matéria orgânica permanece praticamente inalterada sendo predominantemente aquática ($C/N \leq 10$ e $RTA < 1$). Abaixo de 45 cm o teor de matéria orgânica é menor, apresentando origem tanto aquática como terrestre ($C/N > 10$ e $RTA > 1$). Além disso, pode-se classificar o sedimento da Lagoa do Peri como do tipo gitzá e orgânico. Diversos biomarcadores foram encontrados, como os de plantas superiores (ácidos carboxílicos $C > 22$) e os de ação microbiana (ácidos C15 iso e anteiso, e hidróxiácidos). Como em vários outros ambientes citados na literatura, os sedimentos da Lagoa do Peri apresentaram uma predominância de ácidos carboxílicos com número de carbonos pares e distribuição bimodal, com dois máximos nas faixas entre C14 e C18, e C24 e C28. Em relação aos ácidos graxos de cadeia longa, pode-se concluir que apesar de existir uma alteração na concentração com a profundidade, não há nenhuma mudança significativa na distribuição entre eles, pois IPC é praticamente constante em todos sedimentos analisados (em torno de 5,5). A concentração de feopigmentos varia de 12 $\mu\text{g/g}$ à 178 $\mu\text{g/g}$, enquanto que a de proteínas solúveis varia de 1 $\mu\text{g/g}$ a 18 $\mu\text{g/g}$ de sedimento seco. Outro ponto importante é a diferença de concentração dos lipídios que existe entre os perfis, que talvez seja devido ao tamanho de grão dos pontos amostrados.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate both origin and diagenesis of organic matter of Peri Lake bottom sediments. Thus, two cores were collected with P.V.C. tubes of 25 mm of diameter and 1 m in length. These cores were sectioned at every 3 cm interval along the first 15 cm, and at every 5 cm interval from 15 cm to the end of each core. Then, lipids, soluble proteins, phaeopigments, C, N, and H present in these intervals were analysed. In order to better understand the obtained results, some ratios were used, such as : C/N, H/C, ratios between the concentrations of terrigenous and aquatic carboxylic acids (RTA), and Carbon Preference Indexes (CPI). The results of these ratios showed that from the sediment-water interface to about 45 cm in depth, the organic matter origin remains practically unaffected, being mainly aquatic ($C/N \leq 10$ and $RTA < 1$). Below 45 cm, the organic matter amount is lower, having both aquatic and terrigenous origins ($C/N > 10$ and $RTA > 1$). Moreover, Peri Lake bottom sediment can be classified as gyttza that is an organic sediment. Several biomarkers were identified, as those of terrigenous plants (fatty acids $C > 22$) and those of microbial action (acids C15 iso and anteiso, and hydroxy acids). As in many other sediments cited in previous works, the Peri Lake sediments showed a predominance of fatty acids with an even number of carbon, and a bimodal distribution with two maxima between C14 and C18, and C24 and C28. Regarding long chain fatty acids, in spite of an alteration in its concentration with depth, there is not any significant change in distribution among them since there is no changing at CPI values (about 5,5). The phaeopigment concentration ranges from 12 $\mu\text{g/g}$ to 178 $\mu\text{g/g}$, whereas the soluble protein concentration ranges from 1 $\mu\text{g/g}$ to 18 $\mu\text{g/g}$. Another important point is the difference of lipids concentration that exists between the two cores, which may be caused by the difference of grain size between the two sites where the sediment cores were collected.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 AS LAGOAS.....	1
1.2 A LAGOA DO PERI.....	2
1.3 PALEOLIMNOLOGIA E A HISTÓRIA DOS SEDIMENTOS.....	4
1.4 FORMAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA.....	5
1.5 DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA.....	6
1.6 VARIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ORGANISMOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS.....	8
1.7 LIPÍDIOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS.....	9
1.8 BIOMARCADORES.....	11
1.9 PIGMENTOS.....	14
1.10 RAZÕES C/N E H/C.....	17
1.11 OBJETIVOS.....	18
1.11.1 GERAIS.....	18
1.11.2 ESPECÍFICOS.....	18
1.12 JUSTIFICATIVA.....	19
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	21
2.1 REAGENTES, PADRÕES E SOLVENTES UTILIZADOS.....	21
2.2 LIMPEZA DA VIDRARIA.....	21
2.3 COLETA DAS AMOSTRAS.....	23
2.4 ANÁLISE DE LIPÍDIOS.....	25
2.4.1 REAÇÃO DE METILAÇÃO.....	27
2.4.2 REAÇÃO DE SILANIZAÇÃO.....	28
2.5 ANÁLISE DE CARBONO, NITROGÊNIO E HIDROGÊNIO.....	28
2.6 ANÁLISE DE PROTEÍNA SOLÚVEL.....	29
2.7 ANÁLISE DE FEOPIGMENTOS.....	31
2.8 TEOR DE UMIDADE.....	34
2.9 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS.....	34

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
3.1 ANÁLISES DE CHN.....	35
3.2 ANÁLISES DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS.....	37
3.3 ANÁLISES DE FEOPIGMENTOS.....	39
3.4 TEOR DE UMIDADE.....	41
3.5 ANÁLISE DE LIPÍDIOS.....	42
3.5.1 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS.....	42
3.5.2 CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDIOS.....	44
3.5.3 OUTROS BIOMARCADORES.....	67
4. CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

LISTA DE ABREVIações

CHN - Carbono, hidrogênio e nitrogênio.

%C - Percentual de carbono orgânico

%N - Percentual de nitrogênio total

Ax:y - em que "A" significa que o composto é um ácido carboxílico, "x" o número de carbonos da cadeia linear do ácido, incluindo o do grupo carboxílico, e "y" o número de insaturações que o ácido possui. O símbolo "A" pode ser substituído por "OHAc", "Ad", "OH", "H" para indicar os hidroxiácidos, ácidos dicarboxílicos, álcoois e hidrocarbonetos respectivamente.

Axi - em que "A" e "x" são iguais ao item anterior e "i" indica que o ácido possui uma ou mais insaturações.

Axr - em que "A" e "x" são iguais ao item anterior e "r" indica que o ácido é ramificado

RTA - Razão entre os compostos de origem terrestre e os compostos de origem aquática.

IPC - Índice de Preferência de Carbono.

CG - Cromatografia gasosa.

CG-EM - Cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas.

BSTFA- Bistrimetilsilil-trifluoracetamida

Biciclo- 6-duodecanil 9-metil biciclo[4:4]

BDC- Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico butil octil ester

Pentaleno - Pentaleno-1-duodecano

5-metil - 5-metil-1-decapenteno.

DCM - Diclorometano

LISTA DE TABELAS

2.1 REAGENTES, SOLVENTES E PADRÕES UTILIZADOS.....	22
2.2 PARÂMETROS DO CROMATÓGRAFO.....	27
3.1 PERCENTUAL DE CARBONO ORGÂNICO, NITROGÊNIO E HIDROGÊNIO, BEM COMO A RAZÃO ENTRE OS PERCENTUAIS DE CARBONO E NITROGÊNIO, E HIDROGÊNIO E CARBONO DO TESTEMUNHO 2.....	37
3.2 LIPÍDIOS LIVRES IDENTIFICADOS NO TESTEMUNHO 1, E SUAS CONCENTRAÇÕES.....	51
3.3 LIPÍDIOS LIVRES IDENTIFICADOS NO TESTEMUNHO 2, E SUAS CONCENTRAÇÕES.....	52
3.4 LIPÍDIOS LIGADOS IDENTIFICADOS NO TESTEMUNHO 1 E SUAS CONCENTRAÇÕES.....	53
3.5 LIPÍDIOS LIGADOS IDENTIFICADOS NO TESTEMUNHO 2 E SUAS CONCENTRAÇÕES.....	54
3.6 CONCENTRAÇÕES TOTAIS DE LIPÍDIOS LIVRES E LIGADOS NOS PERFIS 1 E 2.....	64
3.7 RAZÕES TERRESTRE AQUÁTICO PARA OS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS DOS TESTEMUNHOS 1 E 2	64
3.8 ÍNDICES DE PREFERÊNCIA DE CARBONO DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS LIGADOS PARA OS TESTEMUNHOS 1 E 2.....	65
3.9 PERCENTUAIS DAS CONCENTRAÇÕES DE FEOPIGMENTOS, PROTEÍNAS SOLÚVEIS E LIPÍDIOS LIVRES E LIGADOS NAS PROFUNDIDADES DE 20, 40 E 70 CM EM RELAÇÃO À SUPERFÍCIE (0-3cm).....	67

LISTA DE FIGURAS

1.1 MAPA DA LAGOA DO PERI.....	3
1.2 EQUAÇÃO DA FOTOSSÍNTESE.....	5
1.3 (A) ESTRUTURA MOLECULAR DE UM FOSFOLIPÍDIO, LECITINA E (B) O ARRANJO DOS FOSFOLIPÍDIOS NAS MEMBRANAS CELULARES.....	11
1.4 MODELO ESTRUTURAL DE UM ÁCIDO FÚLVICO.....	12
1.5 POSSIBILIDADE DO CAMINHO DE DIAGÊNESE DA CLOROFILA A SOB CONDIÇÕES DE SEDIMENTAÇÃO ANÓXIDA.....	16
2.1 PONTOS DE COLETA NA LAGOA DO PERI.....	24
2.2 PROCEDIMENTO UTILIZADO PARA O TRATAMENTO DE AMOSTRAS NAS ANÁLISES DE LIPÍDIOS.....	26
2.3 CURVA ANALÍTICA UTILIZADA PARA AS DETERMINAÇÕES DE PROTEÍNA BRUTA.....	30
2.4 METODOLOGIA UTILIZADA NA PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PADRÕES DE PROTEÍNA SOLÚVEL.....	30
2.5 CURVA ANALÍTICA OBTIDA DA EXTRAÇÃO DE FEOPIGMENTOS.....	33
3.1 CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS NOS PERFIS 1 E 2 COLETADOS NA LAGOA DO PERI.....	38
3.2 CONCENTRAÇÕES DE FEOPIGMENTOS NOS PERFIS 1 E 2 COLETADOS NA LAGOA DO PERI.....	40
3.3 TEOR DE UMIDADE NOS PERFIS 1 E 2 COLETADOS NA LAGOA DO PERI.....	41
3.4 CROMATOGRAMA DOS LIPÍDIOS LIVRES DO INTERVALO 3-6cm DO PERFIL 1.....	45
3.5 CROMATOGRAMA DOS LIPÍDIOS LIGADOS DO INTERVALO 6-9 cm DO PERFIL 2.....	46
3.6 FRAGMENTOGRAMA DE MASSAS DO COMPOSTO ISO-PENTADECANÓICO.	47
3.7 FRAGMENTOGRAMA DE MASSAS DO COMPOSTO ANTEISO-PENTADECANÓICO.....	48

3.8 FRAGMENTOGRAMA DE MASSAS DO COMPOSTO	
β-HIDROXIHEXADECANÓICO.....	49
3.9 FRAGMENTOGRAMA DE MASSAS DO COMPOSTO	
16-HIDROXIHEXADECANÓICO.....	50
3.10 CONCENTRAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS LIVRES (A) A12, A14, A16 E A18 E (B) A24, A26, A28 NO PERFIL 1.....	56
3.11 CONCENTRAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS LIGADOS (A) A12, A14, A16 E A18 E (B) A24 E A26 NO PERFIL 1.....	57
3.12 CONCENTRAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS LIVRES (A) A12, A14, A16 E A18 E (B) A24, A26, A28 NO PERFIL 2.....	58
3.13 CONCENTRAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS LIGADOS (A) A12, A14, A16 E A18 E (B) A24, A26, A28 NO PERFIL 2.....	59
3.14 RAZÕES C/N E RTA PARA OS SEDIMENTOS DO TESTEMUNHO 2.....	65

1. INTRODUÇÃO

1.1 OS LAGOS

A quantidade de água de lagos na terra é muito pequena em comparação com as águas dos oceanos (229 km^3 contra $1.370.000 \text{ km}^3$), e a quantidade relativamente pequena de água doce existente nestes lagos e rios esconde a sua importância básica na manutenção da vida terrestre (Wetzel, 1975).

Os lagos surgem de fenômenos que são quase sempre de natureza geológica, e devido a sua forma côncava, têm uma tendência natural a sua destruição. Portanto, um lago vive desde seus jovens estágios até a maturidade, captando matéria orgânica e nutrientes num processo natural, e morre quando a bacia está totalmente cheia (Cole, 1979). Mas, entre este dois extremos - nascimento e morte - existe um longo período em que os lagos têm importância :

- a) Ecológica, porque vários animais e plantas vivem em suas águas e/ou em seus arredores;
- b) Econômica, porque é uma fonte de alimentos e de água para o homem;
- c) Biogeoquímica, devido aos equilíbrios biogeoquímicos dos vários ciclos de elementos químicos que dependem diretamente dos lagos.

A proximidade com o homem traz consigo problemas múltiplos ligados ao lançamento de detritos e despejos, acarretando modificações das condições naturais dos sistemas lagunares e adjacentes. A eutrofização acelerada de lagoas costeiras é a consequência direta destas atividades, com a destruição de toda uma história evolutiva (Foy, 1969).

Nas últimas décadas, o estudo do ambiente aquático passou a ser considerado fundamental, devido ao aumento das atividades humanas, de

um lado poluindo nossos rios e lagos e, de outro, necessitando de água não poluída para o seu consumo (Assumpção *et al.*, 1981)

Ambientes como os estuários e lagunas costeiras, por exemplo, são importantes fontes de suprimentos de nutrientes para os ecossistemas costeiros. Desse modo, torna-se imperativo o conhecimento deste ambiente, bem como a sua preservação. Como os ecossistemas são bastante complexos, intervindo parâmetros físicos, biogeoquímicos e climáticos, os estudos sobre os ambientes costeiros devem considerar estes fatores, fazendo com que este assunto seja de interesse interdisciplinar.

1.2 A LAGOA DO PERI

A Lagoa do Peri está localizada ao sul da Ilha de Santa Catarina, situada a 27° 43'30" de latitude sul e 48° 32'30" de longitude oeste, e pertence a uma área de preservação permanente que conserva ainda a Mata Pluvial Atlântica (Fig. 1.1). Além disso, a Lagoa é o principal manancial de água doce da ilha (5,1 km² de espelho d'água), e que no momento está sendo estudada para fornecer água tratada às comunidades que vivem há poucos quilômetros da região. A Lagoa tem uma profundidade média de seis metros, chegando a onze metros em alguns pontos (Lapolli *et al.*, 1993).

Ao redor da lagoa, são encontrados três morros: Morro da Chapada, Morro da Boa Vista e Morro do Peri com 440, 405 e 334 metros de altitude respectivamente; duas cachoeiras situadas no rio Cachoeira Grande e no rio Ribeirão Grande, ambas resultante da diferença de nível no leito dos rios (Lapolli *et al.*, 1993).

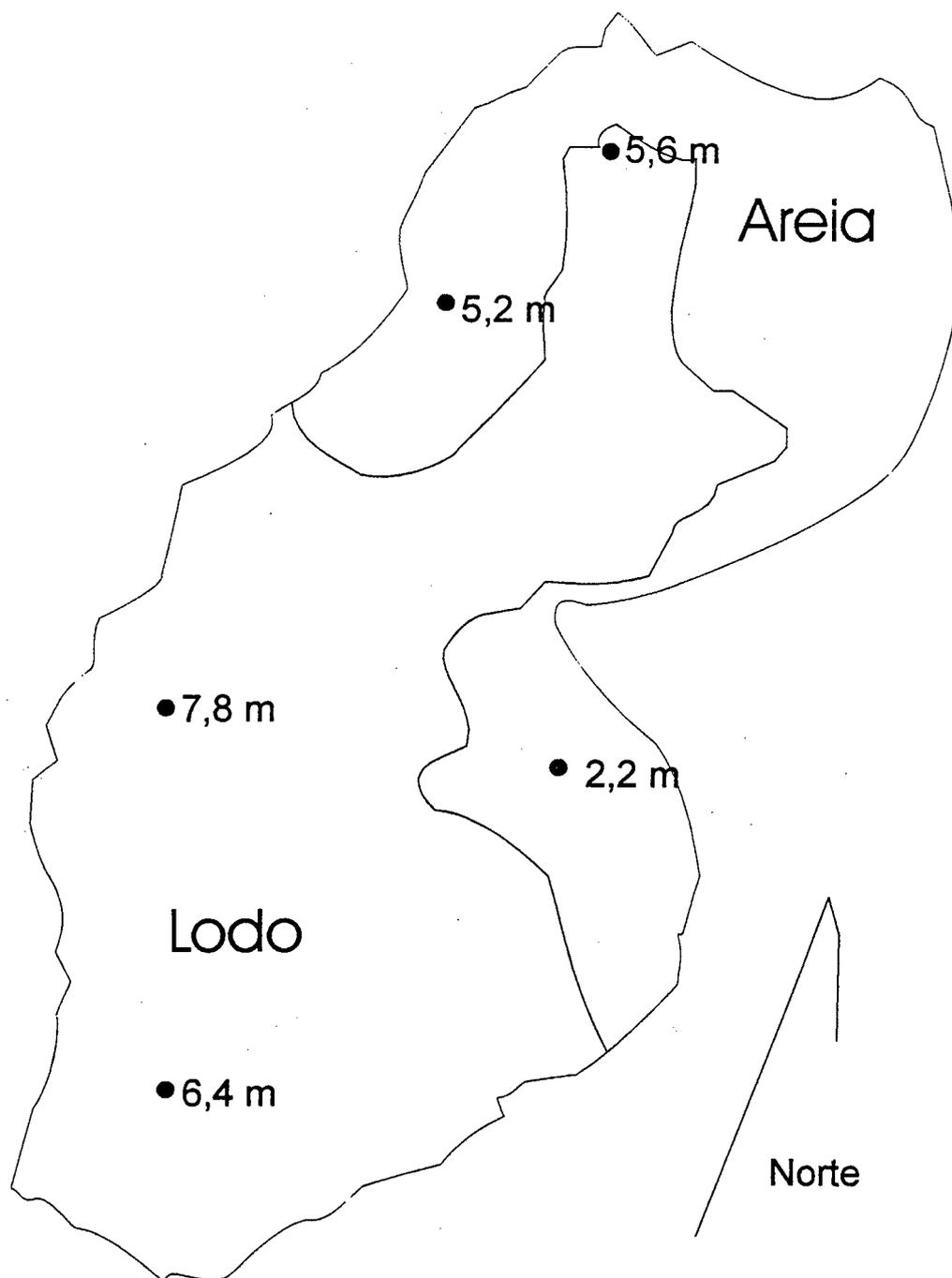


Figura 1.1 Mapa da Lagoa do Peri e algumas profundidades (adaptado de Lapolli et al., 1993)

1.3 PALEOLIMNOLOGIA E A HISTÓRIA DOS SEDIMENTOS

Os sedimentos aquáticos preservam um registro das condições ambientais predominantes da época em que a matéria orgânica foi sedimentada (Wakeham & Canuel, 1990). Partindo-se do princípio que limnologia é a ciência que estuda os processos e transformações da matéria e energia nos lagos (Cole, 1979), paleolimnologia é o estudo destes registros em épocas passadas. Este ramo da limnologia também estuda as trocas sedimentares e processos diagenéticos que podem alterar as condições do sedimento no momento em que este foi depositado, com o objetivo de ter uma visão mais precisa dos parâmetros reguladores que causam os diferentes estágios de produtividade no sistema lagunar (Wetzel, 1975). Em uma definição mais simples, Cole (1979) relata que paleolimnologia é o estudo de sedimentos lacustres e de relíquias preservadas nele.

A mineralogia, a estrutura dos sedimentos, os compostos orgânicos e os inorgânicos, assim como os restos de organismos preservados nos sedimentos, permitem interpretações sobre as condições do corpo lagunar que tem levado a alterações na produtividade primária (Wetzel, 1975). Além disso, alguns compostos químicos indicam a presença de microrganismos na época de sedimentação e que pode indicar as condições e estado pretérito da lagoa. Para se melhor interpretar os resultados das análises químicas, vários índices são utilizados, como por exemplo, razão C/N, Índice de Preferência de Carbono, entre outros. Estes índices são mostrados mais detalhadamente adiante.

Os resultados das análises químicas de constituintes orgânicos sedimentados podem diferenciar se os compostos são oriundos de fora ou de dentro do corpo lagunar. A entrada de matéria orgânica sedimentada é considerada autóctone, se ela se origina perto ou no lugar de deposição; ou alóctone, se transportada de outro ambiente. Entretanto, estes termos devem ser usados com cuidado, pois material de origem alóctone

geralmente é confundido com plantas terrestres, o que não é verdade. Em mangues, por exemplo, plantas superiores têm uma grande contribuição autóctone. Entradas autóctones normalmente incluem restos de fitoplâncton ou de organismos que se alimentam direta ou indiretamente do fitoplâncton que vive na coluna d'água ou nos primeiros centímetros de sedimento (Killops & Killops, 1993).

1.4 FORMAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA

O processo fotossintético converte a energia luminosa em energia química. Fotossíntese é basicamente o processo que transfere um próton da água para o dióxido de carbono para produzir matéria orgânica na forma de glicose e oxigênio. O oxigênio é proveniente da água e não do dióxido de carbono. A partir da glicose, organismos autotróficos podem sintetizar polissacarídeos, tais como celulose e amido, e todos constituintes necessários. Uma forma simplificada da equação da reação da fotossíntese é mostrada na figura 1.2.

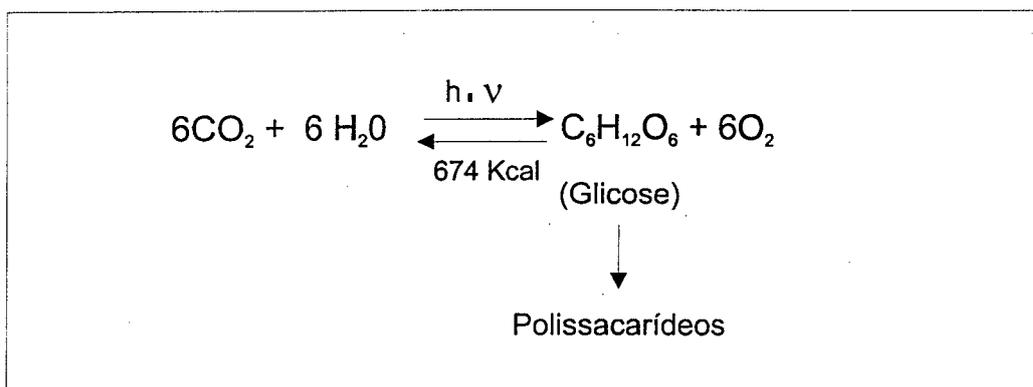


Figura 1.2 Equação simplificada da Fotossíntese. Glicose relativamente rica em energia, é formada por plantas verdes com a ajuda da luz solar ($h \cdot \nu$).

A fotossíntese é o processo básico que produz a massa da matéria orgânica na terra. Organismos autotróficos primitivos, tais como as bactérias fotossintéticas e as algas verdes-azuis, foram os primeiros organismos responsáveis pela produção desta massa. O pré-requisito básico para fotossíntese é a clorofila, o pigmento verde absorvente de luz (Tissot & Welte, 1984).

1.5 DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA

A maior parte da matéria orgânica produzida pelo fitoplâncton é consumida dentro da zona eufótica por zooplâncton herbívoros. A quantidade de material que atinge o sedimento depende da profundidade da coluna d'água através da qual ele passa e a quantidade de produção primária na zona eufótica. Quanto maior a profundidade, maior o tempo na coluna d'água e maior o tempo que as partículas estarão expostas à degradação, que inicia na coluna d'água e continua depois da sedimentação. Quando um detrito é depositado, o seu destino depende da taxa de soterramento e da quantidade de oxigênio presente na superfície do sedimento e dentro dos espaços intersticiais (Killops & Killops, 1993).

Em áreas onde há uma concentração significativa de oxigênio, a matéria orgânica em suspensão é assimilada por organismos que vivem na interface sedimento/água (detritívoros) ou é decomposto por bactérias heterotróficas aeróbias (decompositores). A ação destes detritívoros causa uma mistura do sedimento (bioturbação) e o aumento da oxigenação. As bactérias removem preferencialmente os componentes mais lábeis dos detritos tornando os resíduos mais refratários.

A decomposição da matéria orgânica (mineralização) ocorre rapidamente sob condições óxicas. A taxa de fornecimento de oxigênio é um fator crítico e é influenciado pelos tamanhos das partículas sedimentadas. A quantidade de matéria orgânica no sedimento afeta o balanço entre a taxa de consumo de oxigênio durante a degradação

aeróbia da matéria orgânica e a taxa de difusão de oxigênio dentro dos poros aquáticos na interface sedimento/coluna d'água. A mineralização continua sob condições anóxicas graças a atividade de várias bactérias anaeróbias, estritas e/ou facultativas, porém com menor intensidade. Na ausência de oxigênio molecular as anaeróbias oxidam a matéria orgânica usando vários outros agentes oxidantes: manganês(IV), nitrato, ferro(III), sulfato e bicarbonato (Killops & Killops, 1993).

Algumas bactérias quebram componentes macromoleculares de detritos em moléculas simples por processos hidrolíticos e fermentativos. Estes produtos são substratos para várias outras bactérias heterotróficas anaeróbias que completam a mineralização da matéria orgânica.

Em geoquímica orgânica, o termo diagênese é aplicado aos processos que afetam os produtos da produção primária que acontece antes da deposição, ou nos recentes estágios de sedimentação sob condições de temperatura e pressão relativamente baixas (Tissot & Welte, 1984). Diagênese é, portanto, um processo no qual os sistemas tendem a se aproximar do equilíbrio, sobretudo na região de interface sedimento/água, onde normalmente os sedimentos se consolidam (Van Vleet & Quinn, 1979). Durante a diagênese recente, um dos principais agentes de transformação é a atividade microbiana.

Aminoácidos junto com os peptídeos de baixo peso molecular e carboidratos podem ser absorvidos diretamente pelos organismos decompositores em sedimentos recentes. Proteínas insolúveis e polissacarídeos são geralmente convertidos em seus aminoácidos solúveis em água. Como resultado, a entrada inicial de macromoléculas biológicas freqüentemente não constitui mais do que 20% do total orgânico nas camadas superiores do sedimento.

Proteínas e compostos contendo nitrogênio parecem, em geral, degradar mais rápido do que outras classes de compostos orgânicos, em que as concentrações mais altas de aminoácidos são encontradas na interface sedimento/água. Carboidratos e proteínas não são completamente degradados e traços podem ser encontrados em

sedimentos precambrianos. Lipídios podem também ser mineralizados, mas alguns parecem ser mais resistentes a degradação do que as proteínas e os carboidratos, sendo inclusive pouco alterados. Lignina é a classe mais resistente à biodegradação (Killops & Killops, 1993).

A diagênese em sedimentos pode ser medida comparando-se as taxas de degradação de várias classes de lipídios ou pelo uso de razões entre biomarcadores. Diferentes classes de compostos são degradadas a diferentes taxas. Uma ordem para a resistência de grupos de lipídios em sedimentos anóxicos pode ser a seguinte : alcanos > alcano-2-ona > esteróis > ácidos carboxílicos > álcoois > ácidos carboxílicos monoinsaturados (Rieley *et al.*, 1991). Estendendo esta ordem de resistência para outras classes, pode-se citar que: carboidratos > carbono > nitrogênio \approx amino ácidos > proteínas > lipídios >> feopigmentos (Colombo *et al.*, 1996).

O efeito geral do ataque microbiano é, entretanto, reduzir as concentrações de todas as classes de compostos com o incremento da profundidade. No entanto, associação com substâncias mais resistentes pode ajudar na preservação (Tissot & Welte, 1984; Meyers & Ishiwatari, 1993).

1.6 VARIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ORGANISMOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS.

Apesar de todos os organismos conterem uma larga escala de grupos químicos idênticos, tendo todos praticamente as mesmas funções bioquímicas, estes grupos podem diferir em quantidade entre as diferentes espécies de organismos. Um exemplo são as plantas superiores que podem conter uma alta quantidade de carboidratos (30-50%) e ligninas (15-25%), enquanto que o fitoplâncton não os contém. Diatomáceas e dinoflagelados contêm cerca de 25-50% de proteínas, 5-25% de lipídios, e geralmente mais do que 40 % de carboidratos. Bactérias são totalmente

variáveis, mas podem ser consideradas similares às algas em relação aos constituintes químicos (Colombo *et al.*, 1996).

Observa-se que a natureza da matéria orgânica depositada em sedimentos depende dos tipos de organismos que vivem na lagoa ou nas proximidades. Por exemplo, ligninas de plantas superiores são a principal fonte de compostos aromáticos em sedimentos recentes, enquanto que plâncton e bactérias contribuem principalmente com material alifático (Killops & Killops, 1993).

1.7 LIPÍDIOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS.

Os lipídios encontrados em um ambiente aquático tanto podem ser de origem aquática, que são provenientes principalmente das membranas celulares do fitoplâncton e zooplâncton, como de origem terrestre, que são provenientes de plantas superiores, encontrados em ceras, ligninas, cutina e suberina (Meyers & Ishiwatari, 1993).

Os lipídios podem ser definidos como todas as substâncias produzidas por organismos que são insolúveis em água mas que podem ser extraídas por solventes orgânicos que dissolvem gorduras. Esta definição inclui uma larga variedade de compostos, incluindo pigmentos fotossintéticos. Entretanto, este termo pode variar, e por vezes é restrito a gorduras, ceras, esteróis e fosfolipídios, e/ou somente para ácidos graxos.

As gorduras são triacilgliceróis formados a partir de três ácidos carboxílicos alifáticos chamados de ácidos graxos. Cada um destes ácidos graxos em um triglicerídeo pode ser diferente, no qual são tipicamente de cadeia longa de 12 a 36 carbonos. Em animais são saturados e contêm 16 e 18 átomos de carbono, enquanto que em plantas os ácidos polinsaturados C₁₈ mono, di, e trinsaturados são predominantes. Ácidos polinsaturados são mais comuns em algas do que em plantas superiores.

Estes lipídios são todos importantes constituintes de membranas que isolam as células e seus conteúdos do ambiente que as circundam (Fig. 1.3). Estas membranas são constituídas principalmente por lipídios, proteínas, e fosfolipídios que formam o principal tipo de membrana lipídica (até 65% em plantas; Killops & Killops, 1993).

As ceras funcionam principalmente como camadas protetoras, tais como as ceras cuticulares de folhas. Estas ceras são misturas de muitos constituintes com pontos de fusão bastante altos, como os hidroxiácidos de cadeia linear. Tanto os álcoois como os ácidos nestas ceras têm comprimentos similares entre C_{24} e C_{28} . Estes têm predominantemente uma cadeia com número par de átomos de carbono uma vez que os álcoois são biossintetizados a partir dos ácidos por redução enzimática. Pequenas quantidades de cetonas, alcanos ramificados e aldeídos estão presentes. As ceras também contêm hidrocarbonetos lineares, principalmente os de cadeia longa saturados. Em contraste com os ácidos graxos e os álcoois, os alcanos aparecem geralmente com um número ímpar de carbonos, com uma cadeia variando entre 23 e 33 carbonos (Killops & Killops, 1993).

Dos lipídios presentes em sedimentos, existe a fração que é extraída com solventes orgânicos que é dita *livre*, e a fração que é extraída por hidrólise que é chamada *ligada*. Estes compostos ligados são geralmente ácidos carboxílicos, álcoois e/ou qualquer outro grupo químico que pode sofrer hidrólise. Estes grupos podem estar fixados no material húmico, como por exemplo, na forma de substituintes como ésteres alifáticos (Tissot & Welte, 1984; Leenheer, 1994). Os compostos ligados são predominantemente hidroxiácidos provenientes de bactérias (Matsumoto *et al.*, 1988) ou plantas superiores, e ácidos dicarboxílicos que são oriundos de plantas superiores (Tissot & Welte, 1984).

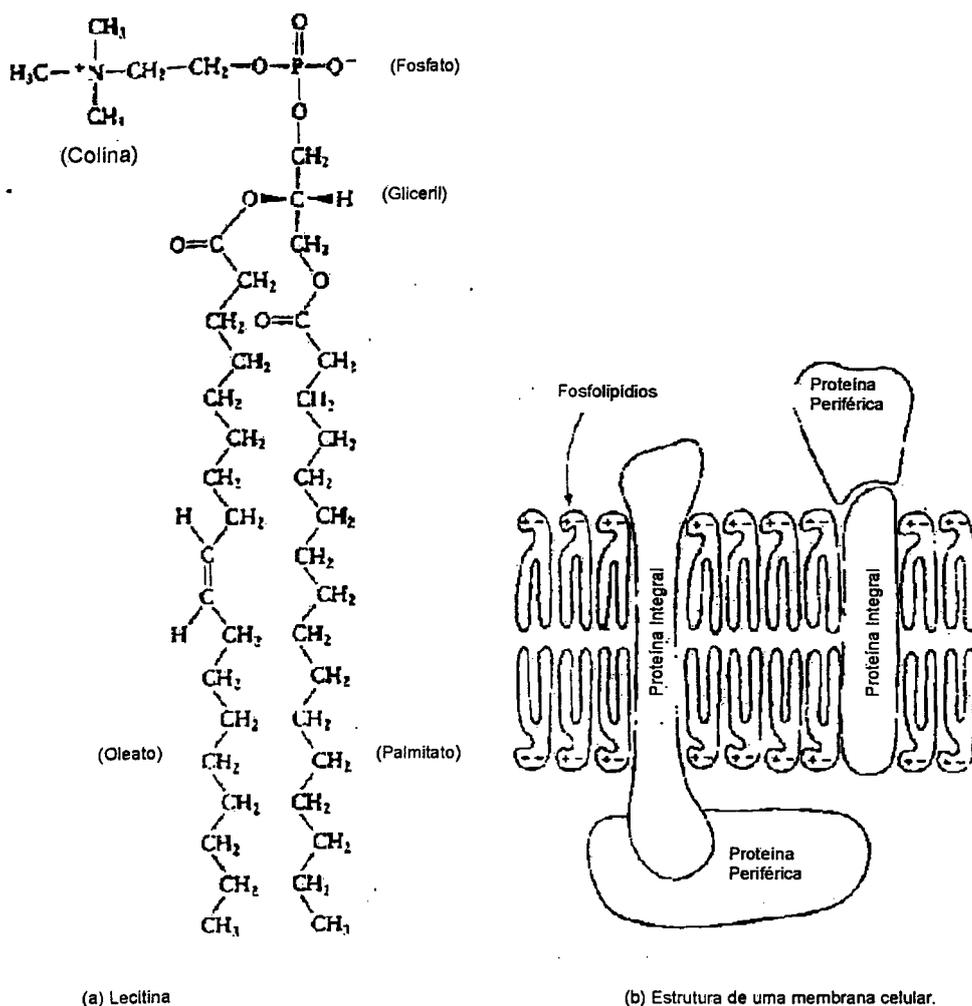


Figura 1.3 (a) Estrutura molecular de um fosfolípido, lecitina e (b) O arranjo dos fosfolípidios nas membranas celulares.

1.8 BIOMARCADORES

Os lipídios preservados em sedimentos têm sido chamados de biomarcadores (ou compostos marcadores biológicos) por estarem ligados, de alguma forma, aos seus precursores biológicos (Killops & Killops, 1993). Como exemplo, o modelo de um ácido fúlvico (Fig. 1.5) do Rio Suwannee, Georgia, USA, apresenta resíduos de carboidrato, lignina e lipídio

(Leenheer, 1994). Além da origem da matéria orgânica, os biomarcadores também podem revelar o destino deste material tornando-se uma potente ferramenta para estudos de ciclos biogeoquímicos (Laureillard *et al.*, 1997). Muitas vezes só a presença do biomarcador não é suficiente para se concluir detalhadamente sobre o ambiente estudado, tornando-se necessária a sua quantificação (Volkman *et al.*, 1980; Sicre *et al.*, 1988).

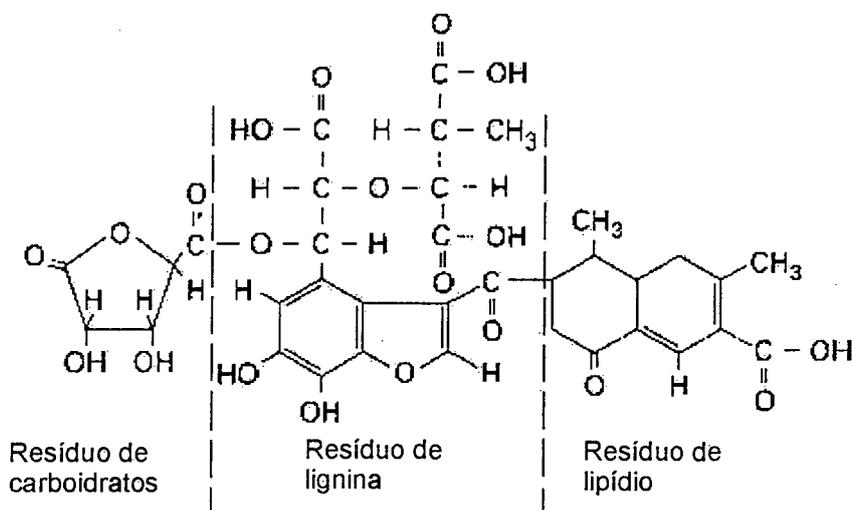


Figura 1.4 Modelo estrutural de um ácido fúlvico do Rio Suwannee, Georgia (Leenheer, 1994).

A importância dos biomarcadores pode ser observada pelo vasto número de artigos que têm sido publicado sobre este assunto, e pelas interpretações geoquímicas que podem ser tiradas destes, tais como :

- da contribuição de microrganismos para a formação da matéria orgânica sedimentar (Volkman *et al.*, 1980; Rieley *et al.*, 1991; Saliot *et al.*, 1991; Killops & Killops, 1993; Meyers & Ishiwatari, 1993; Madureira *et al.*, 1995; Canuel & Martens, 1996; Bourbonniere & Meyers, 1996; Colombo *et al.*, 1996);
- de poluentes (Farrington & Tripp, 1977);

- c) das condições de sedimentação em outras épocas no passado (Didyk *et al.*, 1978; Vleet & Quinn, 1979; Kawamura *et al.*, 1987; Meyers & Ishiwatari, 1993; Madureira *et al.*, 1995; Madureira, 1997);
- d) da relação entre alguns organismos e seus habitats (White *et al.*, 1979; Meyers *et al.*, 1980; Volkman *et al.*, 1980; Harvey *et al.*, 1987; Harvey, 1994; Rogerson & Johns, 1996).

Para facilitar a interpretação da distribuição de certos grupos químicos em sedimentos, alguns índices foram criados. Madureira e colaboradores (1995) relacionam vários deles. Dos mais importantes para este estudo, podemos citar os Índices de Preferência de Carbono (IPC):

Para os alcanos

$$IPC_{AC} = \frac{2(\sum \text{ímpares } n-C_{23} \text{ ao } n-C_{31})}{[\sum(\text{pares } n-C_{22} \text{ ao } n-C_{30}) + \sum(\text{pares } n-C_{24} \text{ ao } n-C_{32})]}$$

Para os ácidos graxos

$$IPC_{AG} = \frac{2(\sum \text{pares } n-C_{22} \text{ ao } n-C_{30})}{[\sum(\text{ímpares } n-C_{21} \text{ ao } n-C_{29}) + \sum(\text{ímpares } n-C_{23} \text{ ao } n-C_{31})]}$$

Para as ceras epicuticulares de plantas superiores, os valores típicos de IPC para estes dois grupos de compostos são entre 2 e 40 (Madureira, 1994; Rieley *et al.*, 1991).

Outro índice bastante utilizado está baseado na abundância e origem de certos grupos lipídicos, tais como, os alcanos e ácidos graxos, e é chamado de RTA (Razão entre a matéria de origem terrestre e aquática). A presença de alcanos C_{27} , C_{29} e C_{31} em extratos de sedimentos mostram que ceras de plantas superiores são uma importante fonte de geolipídios

para estes sedimentos. Por outro lado, a contribuição de algas é indicada pela presença dos alcanos C₁₅, C₁₇ e C₁₉. Portanto :

$$RTA_{AC} = (C_{27} + C_{29} + C_{31}) / (C_{15} + C_{17} + C_{19})$$

De maneira análoga, os ácidos graxos C₂₄, C₂₆ e C₂₈ têm origem terrestre, e apesar dos ácidos graxos C₁₂, C₁₄ e C₁₆ também serem produzidos pelas plantas, eles são predominantemente de origem aquática.

Então :

$$RTA_{AG} = (C_{24} + C_{26} + C_{28}) / (C_{12} + C_{14} + C_{16})$$

De maneira que, se $RTA > 1$, há provavelmente uma deposição predominante de matéria orgânica terrestre, e se $RTA < 1$, a matéria orgânica sedimentada é em sua maioria de origem aquática (Bourbonniere & Meyers, 1996).

1.9 PIGMENTOS.

Os pigmentos em ambientes aquáticos são amplamente discutidos na literatura, pois as clorofilas e os carotenóides são poderosos biomarcadores quimiotaxionômicos, bem como traçadores de processos envolvidos na transformação e degradação da população fitoplanctônica (Williams & Claustre, 1991; Peeken, 1997; Riaux-Gobin *et al.*, 1997).

Os pigmentos são sintetizados por uma extensa quantidade de organismos fotossintetisadores e sofrem transformações moleculares no qual íons e grupos laterais são perdidos durante a degradação física e biológica. Há uma tendência natural para a degradação desses produtos para aumentar a sua estabilidade. Clorofila *a*, por exemplo, degrada para

feofitina *a* com a perda de magnésio e então para feoforbide *a* com a perda do grupo fitil. A Clorofilide também é um intermediário da diagênese da clorofila-*a* (Fig 1.4). Chama-se estes derivados da clorofila *a* de feopigmentos.

A distribuição de pigmentos oferece a possibilidade de identificação e estimação de populações de plantas no passado bem como das condições ambientais na época da sua deposição. Como exemplo pode-se citar o pigmento Mixoxantina, que é um carotenóide específico para algas verdes-azuis em fases eutróficas (Wetzel, 1975).

Os pigmentos são compostos lábeis, os quais normalmente ficam até 3 dias em superfícies de lagos antes da fotodegradação. Entretanto, em lagos na Antártica, estes pigmentos duram até 10 dias em temperaturas de $-1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sedimentação rápida em zonas eutróficas também reduzem o seu decaimento (Laureillard *et al.*, 1997).

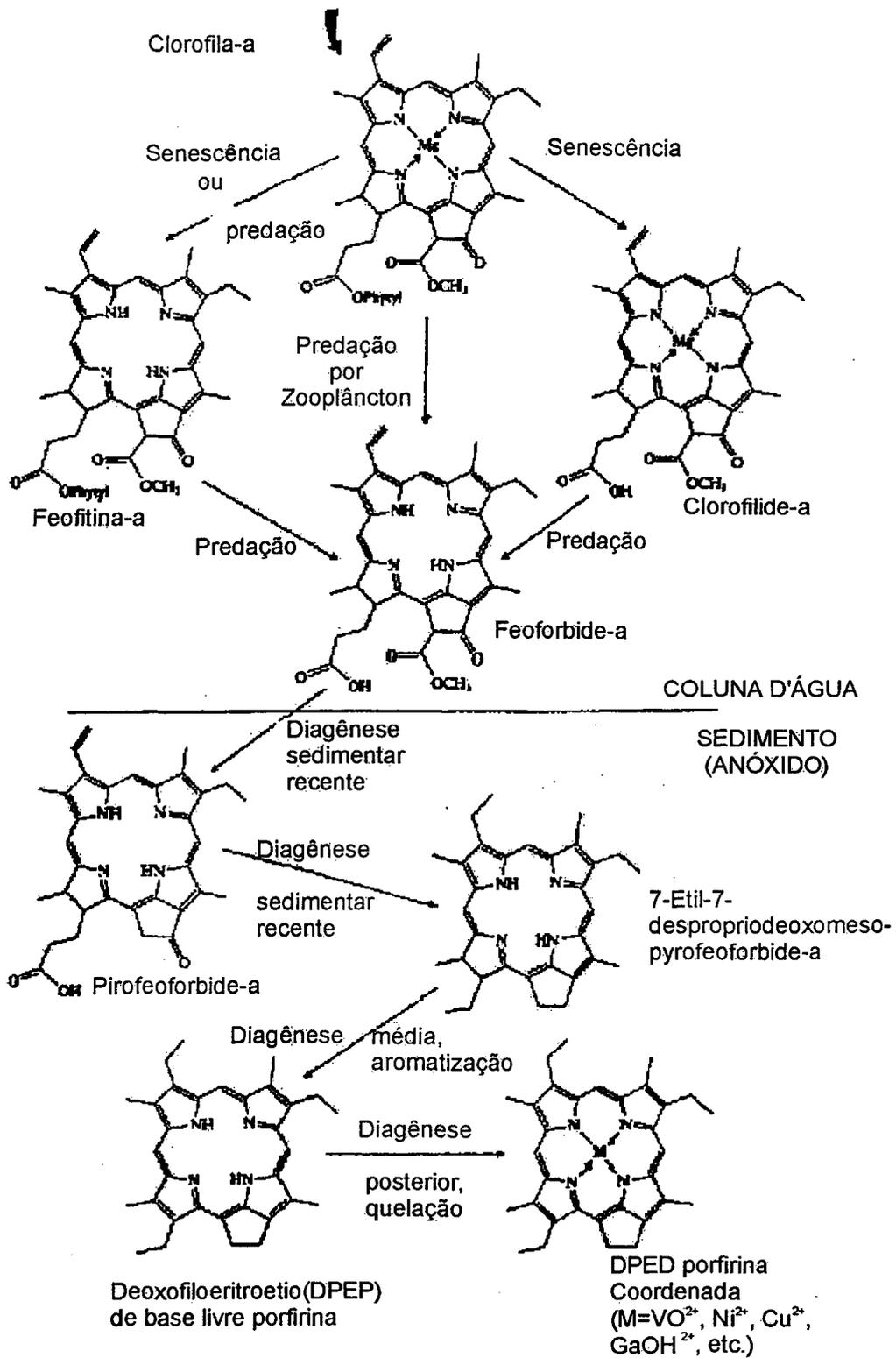


Figura 1.5 Possibilidade do caminho de diagenese da clorofila a sob condições de sedimentação anóxica.

1.10 RAZÕES C/N E H/C

As razões C/N e H/C são amplamente utilizadas para determinar a origem da matéria orgânica em que contribuições de plantas superiores, fitoplâncton e zooplâncton podem ser indicadas (Meyers & Ishiwatari, 1993; Hebbeln & Berner, 1993; Colombo *et al.*, 1996). Como exemplo, derivados de plantas superiores com um alto conteúdo de ligninas e carboidratos, têm H/C entre 1.3 e 1.5, enquanto que derivados de plâncton com uma grande quantidade de proteínas e lipídios, têm uma razão H/C entre 1.7 e 1.9. A principal razão para esta diferença é que a matéria derivada de plantas superiores é mais rica em oxigênio e mais aromática do que a matéria aquática (Tissot & Welte, 1984). De forma análoga, pode-se dizer que a razão C/N indica a presença de celulose proveniente de plantas superiores em sedimentos. Plantas aquáticas não vasculares têm razão C/N tipicamente entre 4 e 10. Entretanto, as plantas terrestres vasculares que contêm celulose, podem apresentar uma razão superior a 20 (Meyers & Ishiwatari, 1993; Hebbeln & Berner, 1993).

Além disso, a relação C/N é importante na caracterização do valor nutritivo, pois quanto menor a relação C/N, maior o valor nutritivo do detrito. Outra importância da razão C/N é atribuída à caracterização dos sedimentos lacustres como sendo do tipo "Gyttja" (Copropel, C/N < 10) ou do tipo Distrófico (Dy; C/N > 10; Cole, 1979; Porto Filho, 1993). Os sedimentos tipo "Gyttja" consistem de uma mistura de material húmico, fragmentos de plantas, restos de algas (matéria autóctone), grãos do tipo quartzo e mica, enquanto que os do tipo Dy, são usualmente referenciado como amarelo-marrom, floculento, derivado de plantas fibrosas de origem alóctone (Cole, 1979; Esteves, 1988).

1.11 OBJETIVOS

1.11.1 GERAIS

Fazer uma avaliação qualitativa e quantitativa da composição orgânica dos sedimentos de fundo da Lagoa do Peri através de dois testemunhos, e interpretar os resultados com relevância biogeoquímica.

1.11.2 ESPECÍFICOS

- Obter dados tanto em nível molecular como em nível de classes químicas que constituem o sedimento da lagoa.
- Averiguar a distribuição de grupos de lipídicos de origem autóctone e alóctone nestes testemunhos e possíveis variações com a profundidade.
- Avaliar a presença de biomarcadores no sedimento da lagoa que indiquem a sua origem, tais como : hidroxíácidos, álcoois, ácidos carboxílicos, compostos heterocíclicos aromáticos, entre outros.
- Observar os primeiros estágios da diagênese de lipídios, proteína solúveis e feopigmentos.
- Determinar o percentual de Carbono orgânico e Nitrogênio total, bem como a razão entre estes, e de outros índices (RTA e IPC) envolvendo lipídios nos dois testemunhos coletados a fim de se averiguar a origem da matéria orgânica.
- Comparar os índices C/N e H/C baseados na distribuição dos lipídios.

1.12. JUSTIFICATIVA

Uma das características marcantes de Florianópolis, bem como de todo litoral catarinense, são as suas belezas naturais, o que torna freqüente a presença de turistas vindos de todo o Brasil e do exterior. Apesar disso, poucos estudos para a manutenção destes ambientes costeiros são encontrados na literatura.

No entanto, o estudo destas áreas se torna um fator essencial para a manutenção destes ambientes. Muitos problemas encontrados pelos ambientalistas hoje em dia, que envolvem as características químicas de muitos ambientes, serão melhor entendidos se conhecermos as condições naturais destes e como essas características mudaram com o passar dos anos. Como exemplo, os cientistas que trabalham com limnologia ou áreas afins precisam de todos os tipos de informações sobre condições passadas, tais como : saber como eram os lagos em condições pré-antropogênicas, se a água do lago tem mudado quimicamente ou não, entre outras (Charles & Smol, 1994). Segundo Laureillard (1997), há um aumento no interesse de áreas relativamente não poluídas para estudos de ciclos biogeoquímicos. Portanto, este estudo se justifica pelo fato de fornecer dados de um ambiente não poluído ou pouco poluído. Além disso, a discussão sobre os compostos geoquímicos encontrados neste ambiente se torna necessária para se entender estes ambientes a nível regional.

Neste trabalho, optou-se pelo estudo de dois testemunhos de sedimentos da Lagoa do Peri, localizada na Ilha de Santa Catarina, que faz parte de uma área de preservação permanente.

Depois da deposição no sedimento, a transformação da matéria orgânica continua através da seletiva degradação, mistura e sedimentação continuada de outros materiais. Para se entender a importância destes processos, é necessário não somente caracterizar, mas também quantificar a matéria orgânica. Além disso, fatores como produtividade primária, produção bentônica, bioturbação e concentração de oxigênio estão diretamente

relacionadas com a quantidade, distribuição vertical, e os constituintes químicos da matéria orgânica encontrada nos sedimentos (Colombo *et al.*, 1996).

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 REAGENTES, PADRÕES E SOLVENTES UTILIZADOS

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A tabela 2.1 apresenta-os com os seus respectivos fabricantes. Para se averiguar a autenticidade da pureza dos solventes orgânicos, concentrou-se estes através de evaporações de volumes de 100 mL à aproximadamente 3mL. Destas soluções concentradas, tomou-se alíquotas de 2 μ L as quais foram injetadas no CG. Os solventes que geraram um cromatograma com um único pico foram considerados puros, logo, próprios para o uso. Quando dois picos ou mais foram detectados, o solvente foi considerado impuro e impróprio para o uso.

Foram utilizados três compostos como padrões nas análises de lipídios, 5- α -colestano, hexatriacontano e cis-13-docosenoato de metila.

2.2 LIMPEZA DA VIDRARIA

Inicialmente, os vidros foram imersos em uma solução hidroalcoólica (preparada a partir de 210 g de KOH em 1 litro de água e ½ litro de etanol) e fervida por 20 minutos. Então, esta solução foi substituída por uma solução de água e detergente que também foi fervida pelo mesmo período. Em seguida, os vidros foram lavados com água em abundância e água destilada.

Tabela 2.1 Reagentes, solventes e padrões utilizados neste trabalho, bem como seus respectivos fabricantes.

Reagentes, solventes ou padrões	Fabricante
Éter etílico	Chemco Ind. e Com. Ltda
Álcool Metílico	Reagen - Quimibrás Ind. Química Ltda
Etanol	Grupo Química - G.C. Industrial S.A.
Hexano	Grupo Química - G.C. Industrial S.A.
Ácido Clorídrico Concentrado	Grupo Química - G.C. Industrial S.A.
Clorofórmio	Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda.
Diclorometano	Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda.
Acetona	Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda.
Tolueno	Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda.
Benzeno	Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda.
Hidróxido de Potássio	Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda.
Sulfato de sódio Anidro	Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda.
Cloreto de acetila	Riedel-de Haen
5- α -colestano	Sigma
BSTFA	Sigma
Hexatriacontano	Sigma
Metil cis-13-docosenoato	Fluka chemika-biochemika
Soro de Albomina Bovina	Merck
Azul de Comissê "G" 35050	Serva
Ácido fosfórico 85%	Cario Erba
Fosfato de potássio monobásico	Vetec Química Fina Ltda.
Fosfato de potássio dibásico	Vetec Química Fina Ltda.

2.3 COLETA DAS AMOSTRAS.

A coleta dos testemunhos provenientes da Lagoa do Peri foi realizada com tubos de P.V.C de 25 mm de diâmetro com 1 metro de comprimento. Vários tubos foram rosqueados um ao outro formando uma única peça que foi introduzida na posição vertical na coluna d'água até atingir o fundo do lago. Então, após a peça tocar o sedimento, introduziu-se mais um metro a fim de se coletar um testemunho com este comprimento. Para que a amostra não fosse derrubada pelo peso d'água, quando toda a peça fosse trazida de volta até o barco, colocou-se entre o primeiro e o segundo tubo uma válvula de pressão. Quando os tubos dos testemunhos chegavam ao barco, estes eram tampados com rolhas de cortiça. Este um metro de sedimento coletado na posição vertical é normalmente chamado de testemunho ou de perfil.

Como o fundo da Lagoa do Peri é formado por duas regiões distintas, uma de sedimento arenoso e outra formada por lodo, coletou-se dois testemunhos (Fig. 2.1). Um na região central da lagoa formado basicamente por lodo, e outro próximo a região arenosa da lagoa, para se avaliar se há alguma influência do tamanho do grão sobre a sedimentação da matéria orgânica. A coleta de um testemunho na região arenosa não foi realizada devido a pouca quantidade de matéria orgânica existente nela.

Para se retirar o material coletado dos tubos no laboratório, usou-se um pistão que foi introduzido no tubo no sentido do ponto mais profundo de sedimento para o ponto da interface sedimento/água.

As amostras foram armazenadas em um freezer em temperatura menor que -20°C . Todos os testemunhos foram fatiados em intervalos de 3 cm, ao longo dos primeiros 15 cm, e em intervalos de 5 cm até o final de cada um deles.

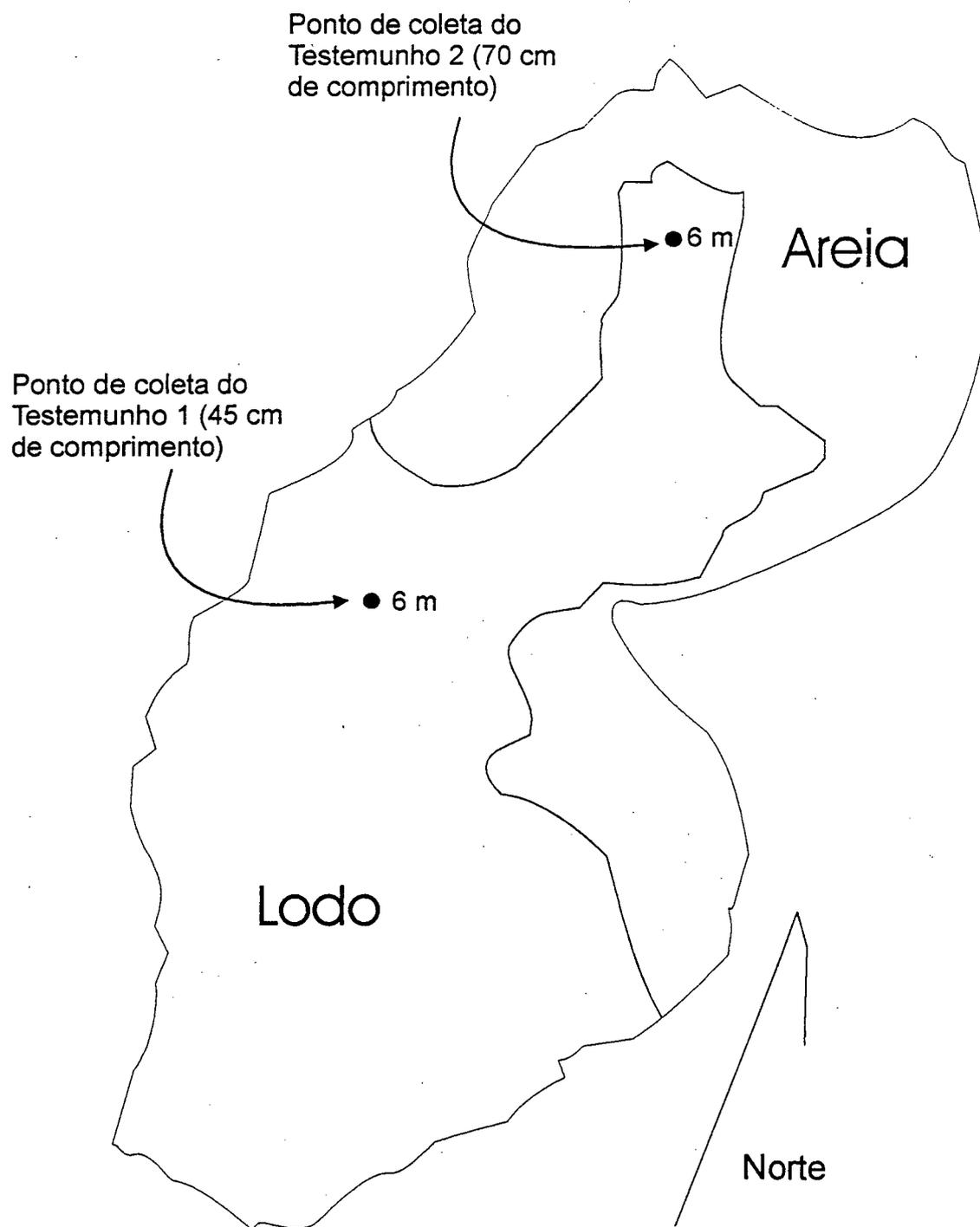


Figura 2.1 Pontos de coleta dos perfis 1 e 2 na Lagoa do Peri.

2.4 ANÁLISE DE LIPÍDIOS

A figura 2.2 mostra um esquema do procedimento realizado para as análises de lipídios livres e lipídios ligados. Após as amostras serem liofilizadas, subamostras de 0,8 a 1,5 g de sedimento de cada profundidade foram pesadas em tubos de ensaio com seguida adição de padrões (10 μ L da solução padrão).

Soluções de MeOH:CH₂Cl₂ (1:1) foram preparadas, e um volume aproximadamente 3 vezes maior ao das subamostras foi adicionado a cada um dos tubos que foram sonificados durante 15 minutos para fazer as extrações. Os tubos foram então centrifugados e o sobrenadante separado do precipitado. Para uma total extração, adicionou-se o solvente ao precipitado e efetuou-se as extrações por mais duas vezes. Este número de extrações foi estipulado analisando-se a solução de uma quarta extração de uma das subamostras em separado. Como nenhum outro pico além ao do solvente apareceu no cromatograma, definiu-se como padrão três extrações.

Os lipídios ligados são extraídos do sedimento no qual os lipídios livres foram extraídos previamente. Para se realizar a extração desses compostos, fez-se uma saponificação com uma solução KOH /Metanol(95%) 2 M que foi adicionada (volume de duas vezes maior do que aquele do sedimento) nos tubos que foram sonificados durante 30 minutos. Repetiu-se este procedimento mais duas vezes. Os sobrenadantes foram transferidos e combinados em outro tubo, com seguidas adições de HCl concentrado até atingir pH \approx 1. Então, realizou-se três extrações dos lipídios que foram saponificados com uma solução de hexano/eter etílico (9:1).

A fim de se diminuir a polaridade tanto dos ácidos graxos livres como dos ligados fez-se reações de metilação (esterificação). Em seguida, realizou-se uma reação de derivatização (silanização) das hidroxilas com o intuito de que os compostos que contêm estes grupos

sejam identificados mais facilmente pela presença de um pico M-15 no espectro de massas.

As injeções no CG e CG-EM foram feitas utilizando-se clorofórmio (cerca de 30µL) para dissolver as amostras preparadas. Alíquotas de 1,2 µL foram injetadas. A tabela 2.3 informa os parâmetros cromatográficos.

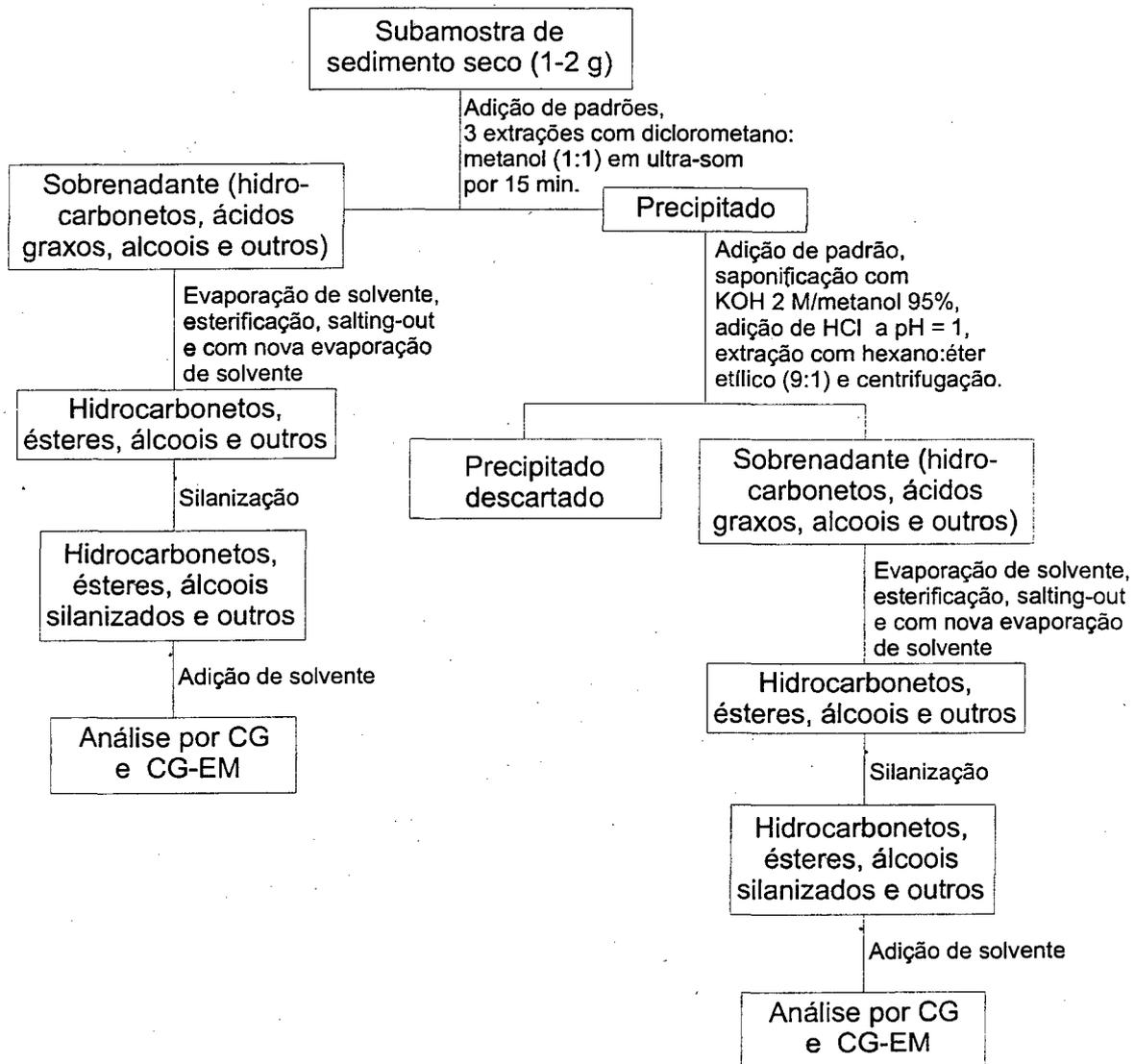


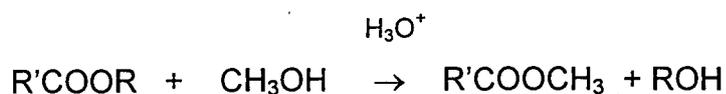
Figura 2.2 Procedimento utilizado para o tratamento de amostras nas análises de lipídios.

Tabela 2.2 Parâmetros do cromatógrafo no qual as análises de lipídios foram realizadas.

Tempo de splitless	1 min
Divisão de fluxo	1:40
Fluxo do gás carregador	1-2mL/min
Temperatura inicial da Coluna	40°C
Temperatura final da coluna	310°C
Taxa de aquecimento da coluna entre 40 e 140°C	12°C/min
Taxa de aquecimento da coluna entre 140 e 310°C	4°C/min
Tempo de Isotherma à 310 °C	8 min

2.4.1 REAÇÃO DE METILAÇÃO

Para realizar esta reação, todo o solvente proveniente das extrações foi evaporado. A esterificação/transesterificação de Fisher de ácidos carboxílicos e ésteres para a forma de ésteres metílicos de ácidos graxos é obtida com a reação de um álcool de baixo peso molecular, metanol, em presença de ácido mineral, HCl :



em que :

R = H (esterificação), R = C_nH_{2n+1} (transesterificação)

O reagente é preparado em banho de gelo reagindo-se metanol recém tirado do freezer, ca. 20,0 mL, com cloreto de acetila, ca. 2,0 mL. Em seguida, a mistura é adicionada à amostra que é então mantida em

estufa por 12 horas à temperatura de 50-60 °C sob atmosfera de nitrogênio. Após esta fase, foi adicionado DCM e uma solução de cloreto de sódio 10 %. A mistura foi em seguida agitada e centrifugada para separar mais rapidamente a fase orgânica da fase aquosa, que foi passada através de micro-colunas com Na₂SO₄ (anidro) a fim de se retirar totalmente qualquer resíduo de água. A fase orgânica foi evaporada novamente, sob fluxo de nitrogênio, antes de proceder à silanização (Madureira, 1994; Bresciani, 1998).

2.4.2 REAÇÃO DE SILANIZAÇÃO.

Adiciona-se cerca de 30 µL de BSTFA a cada tubo que é em seguida colocado na estufa em atmosfera de N₂. Após uma hora os tubos são retirados e os solventes evaporados sob fluxo de N₂ (Madureira, 1994; Bresciani, 1998).

2.5 ANÁLISE DE CARBONO, NITROGÊNIO E HIDROGÊNIO.

De cada amostra de sedimento, aproximadamente 15 mg foram colocadas dentro de pequenos recipientes de vidro. Em seguida adicionou-se cerca de 0,2 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Usou-se esta concentração diluída devido a pouca quantidade de carbonato existente nas amostras. Mozeto e co-autores (1988) usaram uma solução 0,05 M de ácido clorídrico em amostras semelhantes para o mesmo fim. As soluções foram homogeneizadas e aquecidas em um aquecedor automático a 60°C até a secura. A massa das alíquotas analisadas variam de 0,8 à 1,3 mg.

2.6 ANÁLISE DE PROTEÍNA SOLÚVEIS

As análises de proteínas solúveis foram realizadas de acordo com o método de Bradford (1976) que é rápido e sensível (Radetski, 1996).

Adicionou-se 3 mL de tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ 0,05 M pH = 7,5 às amostras secas em tubos de ensaio com tampa. Então, levou-se estes tubos ao ultra-som durante 30 minutos e, por conseguinte, deixou-se 24 horas na geladeira. Em seguida os tubos foram centrifugados em 892 g^1 . Transferiu-se os sobrenadantes para outros tubos.

Para construir a curva analítica (Figura 2.3), utilizou-se como solução padrão, soro de albomina bovina (SAB) 0,1%. Desta solução, retirou-se 80 μL e adicionou-se à 120 μL de solução tampão num primeiro tubo. Ao segundo tubo adicionou-se 100 μL de tampão e 100 μL do primeiro tubo e assim sucessivamente. Do quinto tubo, retirou-se 100 μL para que todos os tubos ficassem com o mesmo volume (Figura 2.4). A cada tubo adicionou-se 4,5 mL de solução de Azul de coomassie. Após cinco minutos, pôde-se determinar a absorvância das soluções resultantes de SAB (40, 20, 10, 5 e 2,5 $\mu\text{g/g}$) em 594 nm. Como as absorvâncias das soluções se inclui na faixa de absorvância da curva analítica, pode-se fazer as análises das amostras de sedimento. A cor azul resulta da interação de grupos aniônicos do corante com os grupos amina das proteínas que estão na forma NH_3^+ .

A solução de Azul de coomassie foi preparada diluindo-se 100 mg do reagente Azul de coomassie "G" (SERVA 35050), 50 mL de etanol 96% e 100mL de ácido ortofosfórico 85% em 1 litro de água destilada.

¹ Força Centrífuga Relativa = $\text{fcr}(\text{g}) = 1,12 \times 10^{-5} \cdot r \cdot (\text{rpm})^2$; em que r = distância entre o tubo e o centro da centrífuga; e rpm = rotações por minuto.

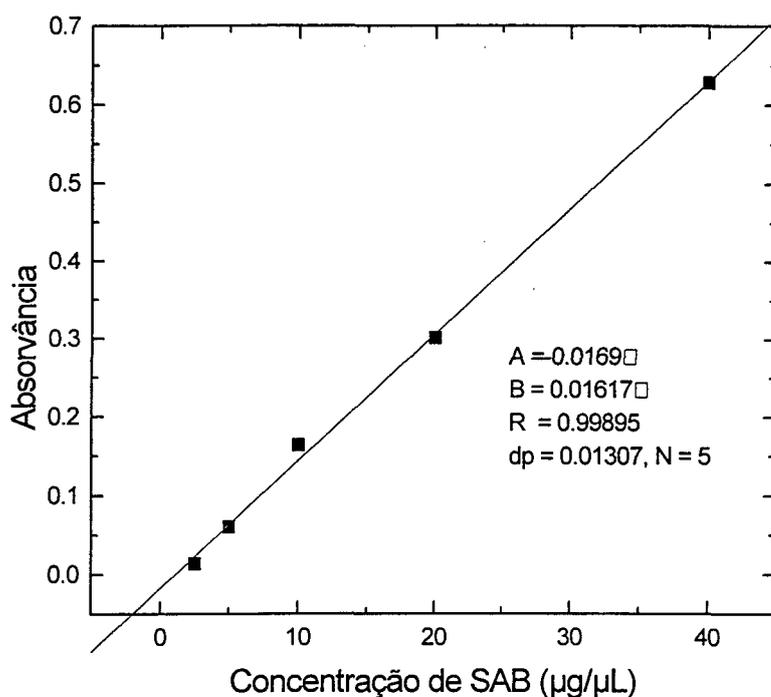


Figura 2.3. Curva analítica utilizada para as determinações de proteína solúveis. Esta foi construída a partir das soluções provenientes das diluições mostradas na Figura 2.4.

Volume (µL) Sol. padrão adicionada (100µg/100 µL)	80	100	100	100	100	100 (Rejeitados)
	+	+	+	+	+	
Solução tampão adicionada (µL)	120	100	100	100	100	
Concentração final de SAB (µg/µL)	40	20	10	5	2,5	

Figura 2.4 Metodologia utilizada na preparação das soluções de padrões de Soro de Albomina Bovina (SAB) que serviram para

construção da curva analítica para análise de proteína solúveis.

2.7 ANÁLISE DE FEOPIGMENTOS

Para a análise de teor de feopigmentos utilizou-se o método proposto por Lorenzen (1974), onde a amostra de sedimento é extraída em acetona 90%. A solução obtida apresenta componentes quimicamente bem diferenciados como feofitina, feoforbídeos, clorofila *a* e *b*. Como os produtos da decomposição da clorofila são mais importantes quantitativamente, adotou-se o termo feopigmentos (Lorenzen, 1974).

A amostra de sedimento é diluída em acetona 90% (5 mL) em um tubo de centrífuga, sendo homogeneizada e colocada em repouso no escuro, em geladeira, por 24 horas. Após é homogeneizada novamente e centrifugada por 30 minutos a 892 g. O sobrenadante é transferido para um balão volumétrico de 10 mL, sendo adicionado mais 3 mL de acetona ao precipitado que é homogeneizado e centrifugado por 30 minutos. O sobrenadante é transferido para o mesmo balão que é então completado a 10 mL. Após ser bem agitada, a solução é transferida para uma cubeta e efetua-se a leitura da absorção a 662 nm em relação a um branco de acetona 90%.

Carmouze (1994) em seu livro cita que Lorenzen em 1967 recomenda que os valores de absorvância têm que estar entre 0,2 e 0,8 que é a faixa que define as melhores condições de leitura do espectrofotômetro. No entanto, como esta referência é relativamente antiga, e os aparelhos atuais são desenvolvidos com melhores detectores, e as nossas amostras estavam apresentando valores de absorvância menores do que 0,2; construiu-se uma curva analítica, tomando como base para se fazer a solução mãe, uma quantidade de

amostra 20 vezes superior em massa a da proposta por Lorenzen (1974).

A solução resultante da extração foi diluída sucessivamente como na figura 2.4 e então analisada. A curva da concentração de Feopigmentos em relação as suas absorções é mostrada na figura 2.5. Esta curva nos assegura que os valores de absorvância de nossas amostras estão dentro da faixa de concentração em que o detetor tem uma resposta linear às concentrações, já que o índice de correlação da mesma é 0,996.

Parsons e co-autores (1984) sugerem que seja adicionado uma pequena quantidade de ácido diluído as soluções de feopigmentos antes das leituras das absorvâncias nos espectrômetros. Este procedimento degrada toda clorofila a que pudesse superestimar as concentrações de feopigmentos existente nas soluções. Como concluiu-se que a concentração de Clorofila a presente nos sedimentos da Lagoa do Peri é muito pequena (ver capítulo 3), esta adição de ácido se tornou desnecessária.

Os cálculos para obtenção dos teores de feopigmentos foram baseados em Lorenzen (1974).

A seguinte fórmula foi aplicada, a qual foi derivada da Lei de Beer:

$$\text{Feop. } (\mu\text{g/g}) = \frac{K \cdot \text{OD662} \cdot v}{g \cdot \text{CO}}$$

Onde :

K = coef. de absorção de feopigmentos (18,75);

OD662 = densidade óptica à 662 nm;

v = volume da solução (10 mL);

g = massa do sedimento utilizado em gramas;

CO = caminho óptico (1 cm);

0.293.664-6
Biblioteca Universitária
UFSC

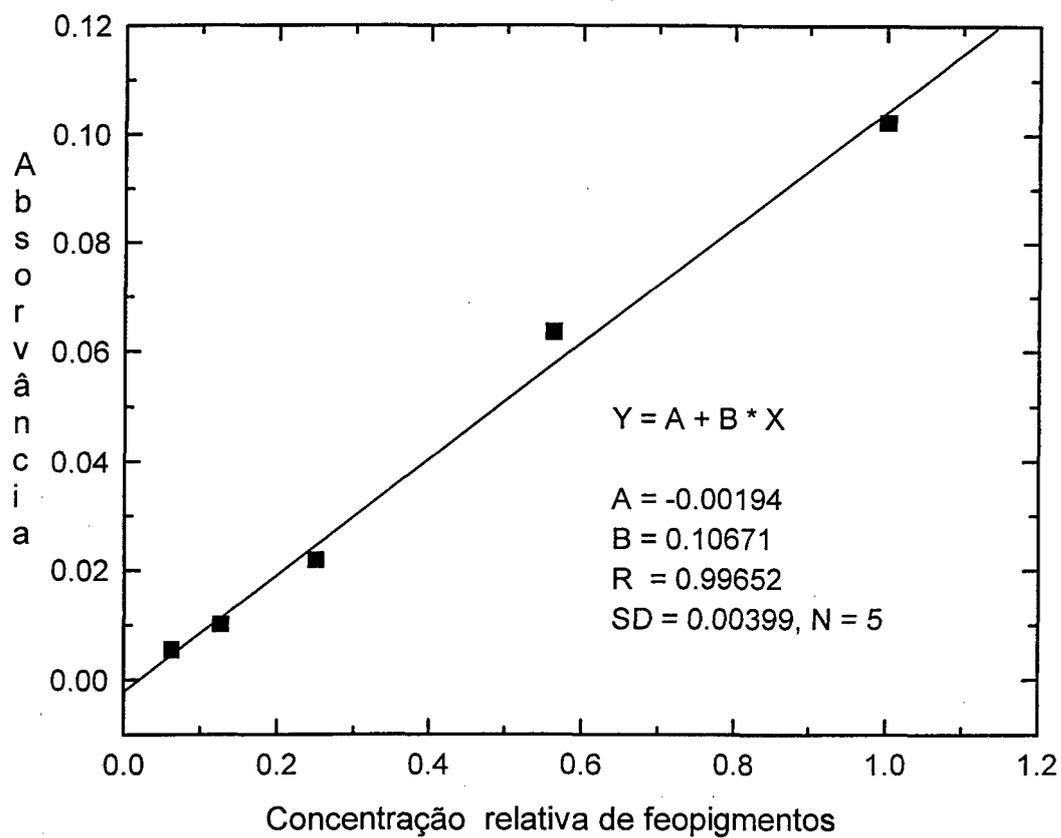


Figura 2.5. Curva analítica obtida da extração de feopigmentos de 4,0 g de sedimento de profundidade de 40 cm (arbitrariamente tomou-se como valor da solução mais concentrada igual a 1).

2.8 TEOR DE UMIDADE

A quantidade de água presente nas amostras foi determinada pela diferença das massas da amostra úmida, antes da liofilização, e seca, depois da liofilização. O teor de umidade foi calculado pela seguinte fórmula :

$$\% \text{umidade} = \frac{(\text{Massa da amostra úmida} - \text{Massa da amostra seca}) \times 100}{\text{Massa da amostra úmida}}$$

2.9 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Para as análises de lipídios foram utilizados um cromatógrafo gasoso marca Shimadzu, modelo GC14B, com uma coluna capilar (25m) de fase ligada do tipo CBP1 e um detector de ionização por chama, com material de sílica fundida e nitrogênio como gás carregador. Também foi utilizado um cromatógrafo gasoso de mesma marca e modelo com espectrômetro de massas marca Shimadzu, modelo GCMS-QP2000 A, sendo usado hélio como gás carregador. Para as análises de Feopigmentos e Proteína bruta foi utilizado um espectrofotômetro Hewlett Packard, modelo 8452A. Para análise de C, H e N foi utilizado um equipamento Perkin-Elmer Elemental Analyser, modelo 2400CHN. Para secar as amostras foi utilizado um Liofilizador modelo Micro Modulyo, marca Edwards, com uma bomba mecânica de modelo CE96 de mesma marca.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

A matéria orgânica constitui a menor parte, mas é uma importante fração de sedimentos lacustres. É constituída de uma complexa mistura de lipídios, carboidratos, proteínas e outros compostos bioquímicos contidos em tecidos de microrganismos bentônicos (Meyers & Ishiwatari, 1993). Neste capítulo, serão apresentados os valores das concentrações dos lipídios, proteínas totais, feopigmentos, carbono, nitrogênio e hidrogênio e umidade presentes nos dois testemunhos da Lagoa do Peri, bem como a interpretação destes resultados com relevância biogeoquímica.

3.1 CHN

Devido a problemas de custo, as análises de CHN foram efetuadas somente para o testemunho 2, o de maior profundidade. Na tabela 3.1 estão apresentados os valores das análises de algumas profundidades deste testemunho. Também estão descritas as razões C/N e H/C. Os valores de Carbono estão compreendidos numa faixa de 1,39 à 13,06 %; os de Nitrogênio entre 0,09 e 1,40%; enquanto que os de Hidrogênio variam entre 0,26 e 2,03%. Os percentuais máximos de Nitrogênio e Carbono são os da superfície, já para o Hidrogênio este valor se repete em profundidades de 12 e 35 cm. Por outro lado, os valores encontrados em 70 cm são os menores para os três elementos. Nota-se ainda, que os valores são praticamente constantes até 55 cm, tendo um brusco decréscimo após esta profundidade. Comportamento inverso é observado para os valores de C/N e H/C, em que na parte constante estes são, respectivamente, em torno de 9,7 e 0,15, e a partir de 55 cm há um significativo aumento, alcançando valores de 15,44 e 0,19, respectivamente, a 70 cm.

Os valores encontrados dos percentuais de C, N e H neste trabalho são em média metade dos encontrados no Lago Priest Post (Cranwell *et al.*, 1987), que é considerado um lago de alta produtividade.

O valor da razão C/N encontrado para o sedimento de superfície do Lago Haruna (Kawamura *et al.*, 1987), 10,5, é superior aos valores de superfície que são aqui apresentados, enquanto que as razões C/N encontradas para sedimentos de superfície por Canuel e Martens (1993) na Baía Cape Lookout, Carolina do Norte, EUA, concordam com as razões C/N da Lagoa do Peri. Os sedimentos da Lagoa da Conceição que foram analisados por Bresciani (1998), têm valores semelhantes ao deste trabalho até 40 cm, enquanto que a partir daí há uma diferença significativa de valores entre 3 e 5 unidades. Por outro lado, a matéria orgânica particulada do Lago Inferião, SP, analisada por Albuquerque e Mozeto (1997) apresenta valores de C/N inferiores aos da Lagoa do Peri.

Como o percentual de matéria orgânica do sedimento da Lagoa do Peri é > 10%, este é classificado como orgânico (Esteves, 1988), e do tipo copropel já que a razão C/N é menor ou em torno de 10 para os primeiros centímetros de sedimento (Cole, 1979). Este tipo de sedimento é uma mistura de material húmico, fragmentos de plantas, com uma maior quantidade de restos de algas, sendo a matéria orgânica deste predominantemente de origem autóctone.

Os valores de H/C mostrados na tabela 3.1 são muito baixos (entre 0,14 e 0,19). Tissot & Welte (1984) reportam que valores tão baixos quanto 0,5 ou 0,6 relacionados com altos valores de O/C são indicadores de uma alta abundância de núcleos aromáticos, de grupos que contêm oxigênios, e da ausência de cadeias alifáticas. Como neste trabalho não analisamos oxigênio, podemos concluir somente que existe uma grande abundância de compostos que contêm muitas insaturações.

Tabela 3.1 Percentual de Carbono Orgânico, Nitrogênio e Hidrogênio, bem como a razão entre os percentuais de Carbono e Nitrogênio, e Hidrogênio e Carbono do Testemunho 2.²

Profund.(cm)	C(%)	N(%)	H(%)	C/N	H/C
3	13,06	1,40	1,87	9.3	0,14
6	11,64	1,09	1,76	10.7	0,15
9	10,88	1,19	1,52	9.1	0,14
12	12,36	1,08	2,03	11.4	0,16
15	12,69	1,26	1,94	10.1	0,15
25	12,13	1,25	1,79	9.7	0,15
35	12,86	1,35	2,03	9.5	0,16
40	11,22	1,14	1,67	9.8	0,15
45	11,89	1,21	1,80	9.8	0,15
55	12,55	0,98	1,87	12.8	0,15
70	1,39	0,09	0,26	15.4	0,19

3.2 PROTEÍNAS SOLÚVEIS

Para se averiguar a precisão do método utilizado, três amostras foram analisadas em triplicata: 20, 40 e 70 cm; resultando nos seguintes coeficientes de variação : 9,16; 9,55 e 8,26%, respectivamente. Considerando que valores até 20% são aceitáveis, pode-se dizer que o método de Bradford (1976) também pode ser aplicado em análises de amostra de sedimentos com boa precisão.

Através da figura 3.1, pode-se observar as concentrações, em $\mu\text{g/g}$, de proteínas, nos testemunhos 1 e 2. Os valores das amostras entre os dois testemunhos de mesma profundidade são próximos em alguns pontos, como por exemplo, 8,31 e 8,85 $\mu\text{g/g}$ nas amostras de superfície, e 3,80 e 2,72 $\mu\text{g/g}$ nas amostras de 40 cm, mas em outros pontos estes são diferentes, como no caso do intervalo 6-9 cm, em que

² Cada intervalo de sedimento será representado somente pela menor profundidade dele. Dessa forma, onde se lê 3 cm, entende-se como o intervalo de 0 a 3 cm de profundidade

no perfil 1, determinou-se 17,61 $\mu\text{g/g}$ de proteínas solúveis, enquanto que para o perfil 2, para este mesmo intervalo, determinou-se 8,41 $\mu\text{g/g}$.

O maior valor de concentração de proteínas solúveis está no perfil 1, a 9 cm de profundidade, enquanto que os menores valores são das amostras de maiores profundidades.

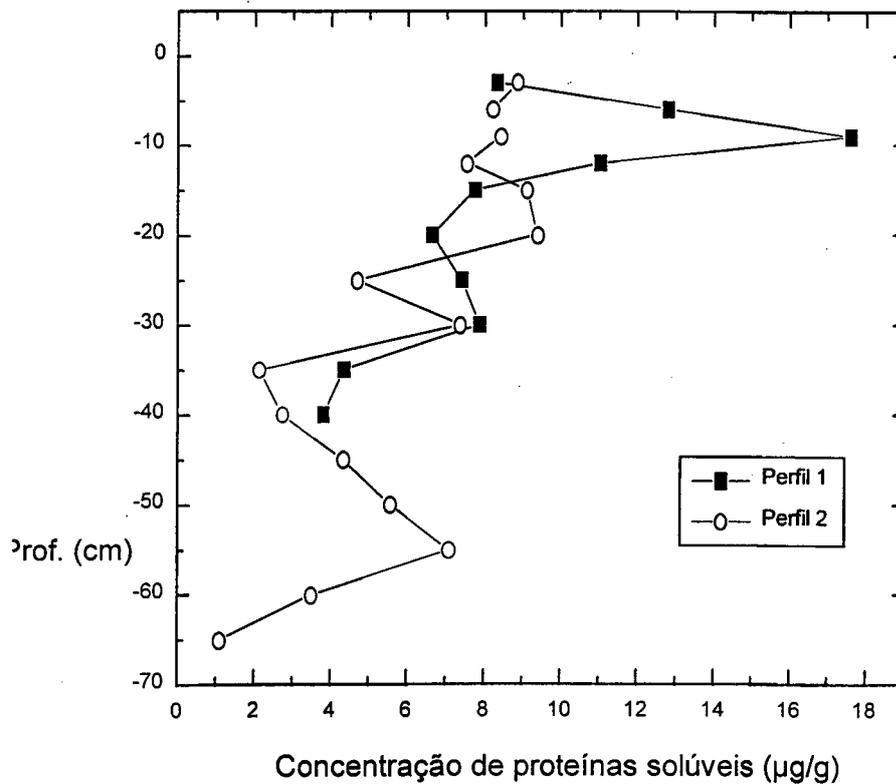


Figura 3.1 Concentração de Proteínas solúveis nos dois perfis amostrados na Lagoa do Peri.

3.3 FEOPIGMENTOS

Nos últimos anos têm sido publicados vários artigos a respeito dos compostos químicos que são produtos da degradação de vários pigmentos e principalmente da clorofila *a* (Williams & Claustre, 1991; Neveux & Lantoiné, 1993; Riaux-Gobin *et al.*, 1997). Com a ajuda de aparelhos mais sofisticados, como o HPLC, alguns desses trabalhos tentam elucidar os caminhos da degradação destes pigmentos em ambiente aquáticos que não são totalmente entendidos (Williams & Claustre, 1991). Além disso, estudos sobre a composição destes pigmentos podem ser utilizados para descobrir a contribuição de diferentes grupos de algas para a biomassa de pigmentos provenientes do fitoplâncton (Peeken, 1997). Na presente dissertação, a quantificação de feopigmentos é utilizada para se inferir sobre a diagênese destes compostos no ambiente estudado.

Em um trabalho de ambiente marinho, Riaux-Gobin e co-autores (1997), observaram que quase toda clorofila *a* degrada antes de chegar aos sedimentos. Portanto, pode-se inferir que os pigmentos analisados nos sedimentos da Lagoa do Peri, são em sua maior parte feopigmentos.

Os resultados das análises destes compostos podem ser vistos através da figura 3.2. De forma análoga às análises de proteínas, foram feitas amostras em triplicatas, sendo uma de superfície e outra de 45 cm de profundidade no testemunho 1. Os coeficientes de variação encontrados foram 7,80 e 14,36 %, respectivamente. Como estes números estão abaixo de 20%, pode-se dizer que os valores das análises são confiáveis.

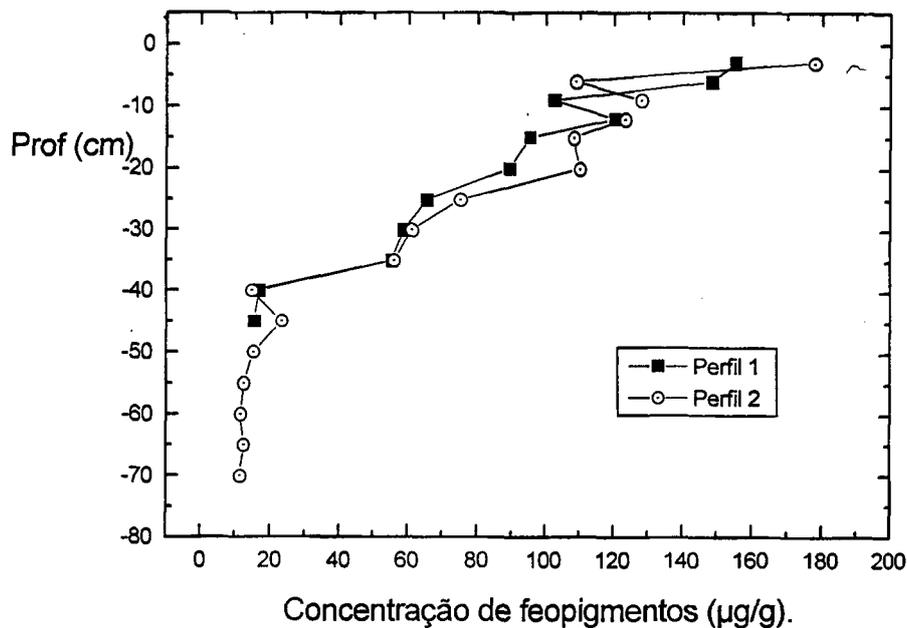


Figura 3.2 Concentrações de feopigmentos nos perfis 1 e 2 coletados na Lagoa do Peri.

As concentrações dos feopigmentos de ambos os perfis apresentaram uma relação com a profundidade, em que os números mais altos em ambos testemunhos estão na superfície; 155,22 e 177,82 $\mu\text{g/g}$; enquanto que os menores são das amostras de maiores profundidades : 15,32 $\mu\text{g/g}$ para o perfil 1 e 11,23 $\mu\text{g/g}$ para o perfil 2. Estes valores podem ser considerados altos, quando comparados com aqueles de ambientes marinhos, pois em um ponto no Atlântico Norte (20°53'N, 31°07'W) amostras de água têm no máximo 0,2 $\mu\text{g/L}$ (Neveux & Lantoiné, 1993). Quando comparados com a Lagoa da Conceição, os nossos dados estão acima da média encontrada para aquela lagoa, 31,31 $\mu\text{g/g}$. Entretanto, a Lagoa da Conceição também apresentou pontos com concentrações parecidas com as da Lagoa do Peri, chegando a 233,75 $\mu\text{g/g}$ (Porto Filho, 1993). Segundo Porto Filho (1993), as variações nas concentrações tanto das proteínas como dos feopigmentos, são susceptíveis a profundidade do ponto coletado e ao tamanho de grão.

3.4 TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade dos sedimentos da Lagoa do Peri tem uma pequena correlação com a profundidade de cada amostra. Isto pode ser observado na figura 3.3, onde, para o perfil 1, os valores variam a partir de 92,2 % na superfície, decaindo constantemente até 83,9 % na profundidade de 40 cm. O único ponto que não segue este decréscimo é o de 25 cm, que apresenta 92,5 % de água. Já para o perfil 2, o valor dos percentuais de água estão em torno de 90% até 55 cm de profundidade, onde decai significativamente até 62,7 % a 70 cm.

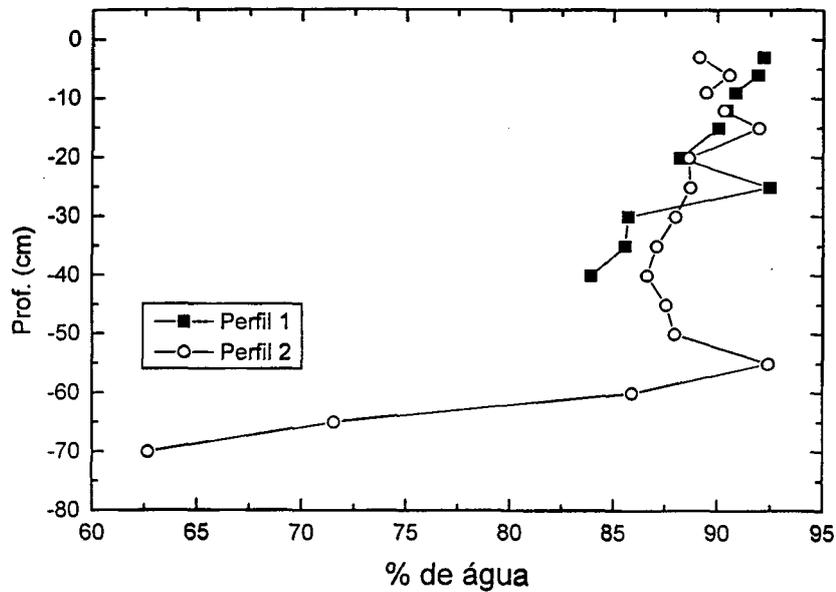


Figura 3.3 Teor de umidade dos sedimentos da Lagoa do Peri para os testemunhos um e dois.

Comparando os valores encontrados na Lagoa do Peri com aqueles reportados por Bresciani(1998) para a Lagoa da Conceição, vimos que estes dois ambientes apresentam quantidades semelhantes de água intersticial. Como exemplo, em um ponto coletado pela autora, os percentuais de umidade em sedimentos oscilam entre 61,79% (20-25cm de profundidade) e 89,66% (5-10cm de profundidade).

3.5 LIPÍDIOS

3.5.1 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS

A identificação dos compostos orgânicos foi baseada no cromatograma de cada amostra, no tempo de retenção de cada composto, tendo-se como referência os padrões adicionados, e/ou no espectro de massas de cada uma das substâncias químicas analisadas. A figura 3.4 é um cromatograma dos lipídios livres a 6 cm de profundidade no perfil 1, enquanto que a figura 3.5 apresenta um cromatograma dos lipídios ligados à 9 cm de profundidade no perfil 2. A maioria dos compostos foram identificados com o auxílio de bibliotecas de espectros de massas em CD-ROOM, artigos da literatura, e/ou interpretação dos picos encontrados nos espectros. No entanto, não foi possível a elucidação de algumas estruturas, as quais são apresentadas neste trabalho como sugestão com o sinal "(?)". Outros compostos estão apresentados somente com a identificação do grupo funcional, o tamanho da cadeia molecular, se ramificado ou não, e se insaturado ou não.

Os ácidos carboxílicos foram identificados principalmente pelo pico base m/z 74. Como exemplo, pode-se citar os ácidos iso e anteiso pentadecanóico (figuras 3.6 e 3.7) que foram identificados no perfil 2 no intervalo de 6-9 cm na fração dos lipídios livres. Estes são dois ácidos

ramificados e sua identificação foi possível pela presença do pico do íon molecular e dos picos M-43 (para o composto iso), e M-57 (para o anteiso). Os hidróxiácidos são outro exemplo, os quais apresentam picos bastante característicos quando metilados e silanizados. A figura 3.8 mostra um β -hidroxiácido identificado neste trabalho, o β -hidroxihexadecanóico, que foi identificado pelos picos m/z 73 ($(\text{CH}_3)_3\text{Si}^+$), m/z 159 ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{SiO}_3^+$), m/z 175 ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{SiO}_3^+$) e M-15 (da perda de uma metila do grupo trimetilsilil). Já o ácido 16-hidroxidecanóico (figura 3.9) foi identificado pelos picos m/z 75 ($(\text{CH}_3)_2\text{SiOH}^+$), m/z 146 ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{SiO}_2^+$), M-15 e M-47 (Eglinton & Hunneman, 1968). Os álcoois foram identificados pelo pico intenso M-15, e pela presença do pico m/z 75 (Fukushima *et al.*, 1996).

Um composto que é geralmente encontrado em sedimentos de ambientes lacustres e marinhos e que não foi identificado neste trabalho é o Fitol (Van Vleet & Quinn, 1979; Jeng & Chen, 1995; Fukushima *et al.*, 1996). Este composto é derivado da clorofila *a*, e a sua ausência pode confirmar a rápida degradação deste pigmento e de seus derivados.

Em relação aos poluentes, não há indícios da presença de hidrocarbonetos de combustíveis fósseis, pois na presença destes, os alcanos têm uma distribuição linear, em que a razão entre os compostos de número de carbonos pares e ímpares é próximo a 1 (Farrington & Tripp, 1977). Em relação aos pesticidas e herbicidas não podemos concluir nada, pois a técnica e os instrumentos empregados neste trabalho não são específicos para estes compostos.

3.5.2 CONCENTRAÇÃO DOS LIPÍDIOS

Em sedimentos recentes de vários ambientes (marinho, lacustre, eutrófico, oligotrófico, óxico, anóxico) existe uma similaridade na distribuição dos ácidos graxos saturados; com uma predominância de compostos com um número par de carbonos e uma distribuição bimodal com dois máximos nas faixas entre C14 e C18, e C24 a C28 (Matsuda & Koyama, 1977). No ambiente estudado isto também acontece, tanto para os lipídios ligados como para os lipídios livres (tabelas 3.2, 3.3, 3.4 e 3.5). Entretanto, na fração dos lipídios ligados, um número maior de compostos foram identificados incluindo-se, hidróxiácidos, álcoois e ácidos dicarboxílicos.

Ácidos graxos com comprimento de cadeia maior que 20 carbonos são atribuídos à matéria orgânica predominantemente terrestre (Cranwell et al, 1987), mas ácidos como os de 22 e 24 carbonos também são encontrados em algas chegando a 25 e 5% respectivamente (Volkman, 1989; Bresciani, 1998). Já a origem dos ácidos de cadeia menor que 20 carbonos tem sido atribuída a microrganismos aquáticos (Volkman, 1989).

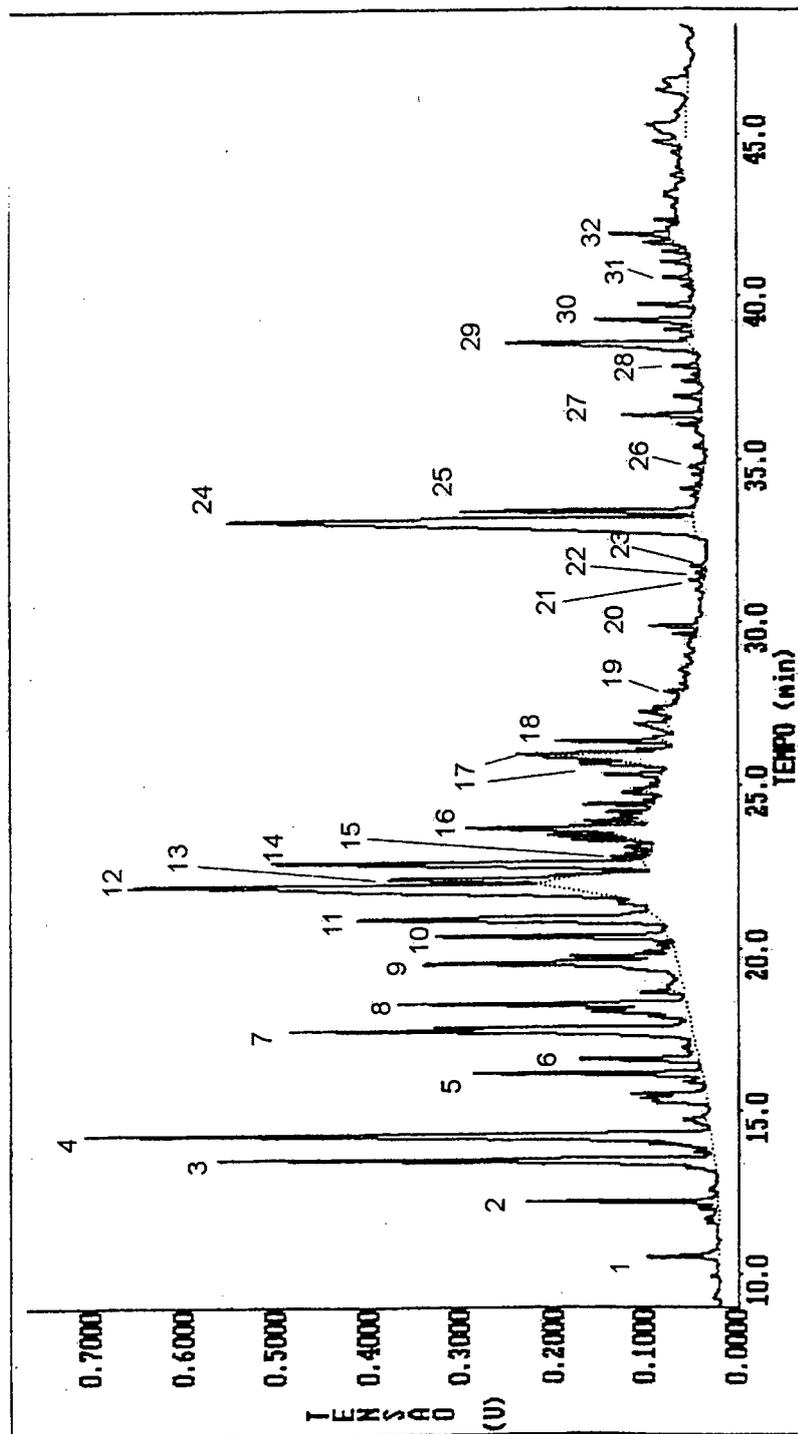


Figura 3.4 Cromatograma dos lipídios livres extraídos do sedimento do intervalo 3-6 cm do perfil 1, onde 1) A10, 2) A11, 3)A12r, 4) A12, 5)Ad9, 6)A13, 7)A14r, 8)A14, 9) H17i, 10)A15, 11)H18r, 12)H18i, 13)A16i, 14)A16, 15)BDC, 16)H19, 17)A18:3, A18:2 e A18:1, 18)A18, 19)A19, 20)A20, 21)Biciclo, 22)A21, 23)Amida(?), 24)Ácido cis-13-docosenoato metil ester(padrão), 25)A22, 26)A23, 27)A24, 28)A25, 29)5 α -colestano(padrão), 30)A26, 31)A27, 32)A28.

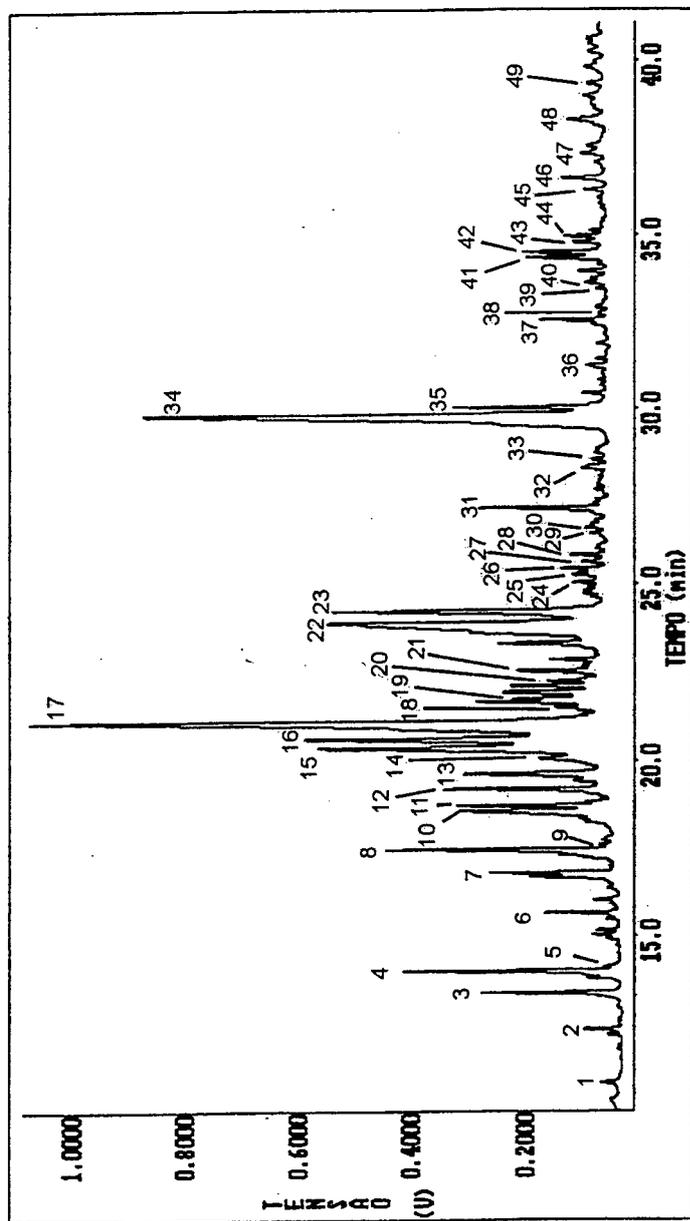


Figura 3.5 Cromatograma dos lipídios ligados extraídos do sedimento do intervalo 3-6 cm do perfil 2, onde 1) A10, 2) A11, 3)A12r, 4) A12, 5)Ad9, 6)A13, 7)A14r, 8)A14 θ)Ad11, 10)A15iso, 11)A15anteiso, 12)A15, 13)H19i, 14)Pentaleno(?), 15)T19i(?), 16)A16i 17)A16, 18)OH16r, 19)OH16, 20)H20i, 21)A17, 22)A18i, 23)18, 24)OH18, 25)OHA15, 26)A19ram, 27)A19, 28)Ad16, 29) β-OHA16, 30) OHA16, 31)A20, 32)A21, 33)Ad18, 34)Ácido cis-13-docosenoato metil ester(padrão) 35)A22, 36)A23, 37)A24, 38)Ad21, 39)Adr22, 40)A25, 41)5α-colestano(padrão), 42)OHA22, 43)A26i, 44)A26, 45)A27, 46)Adi24, 47)A28, 48)OHAc26:2, 49)OHAc26.

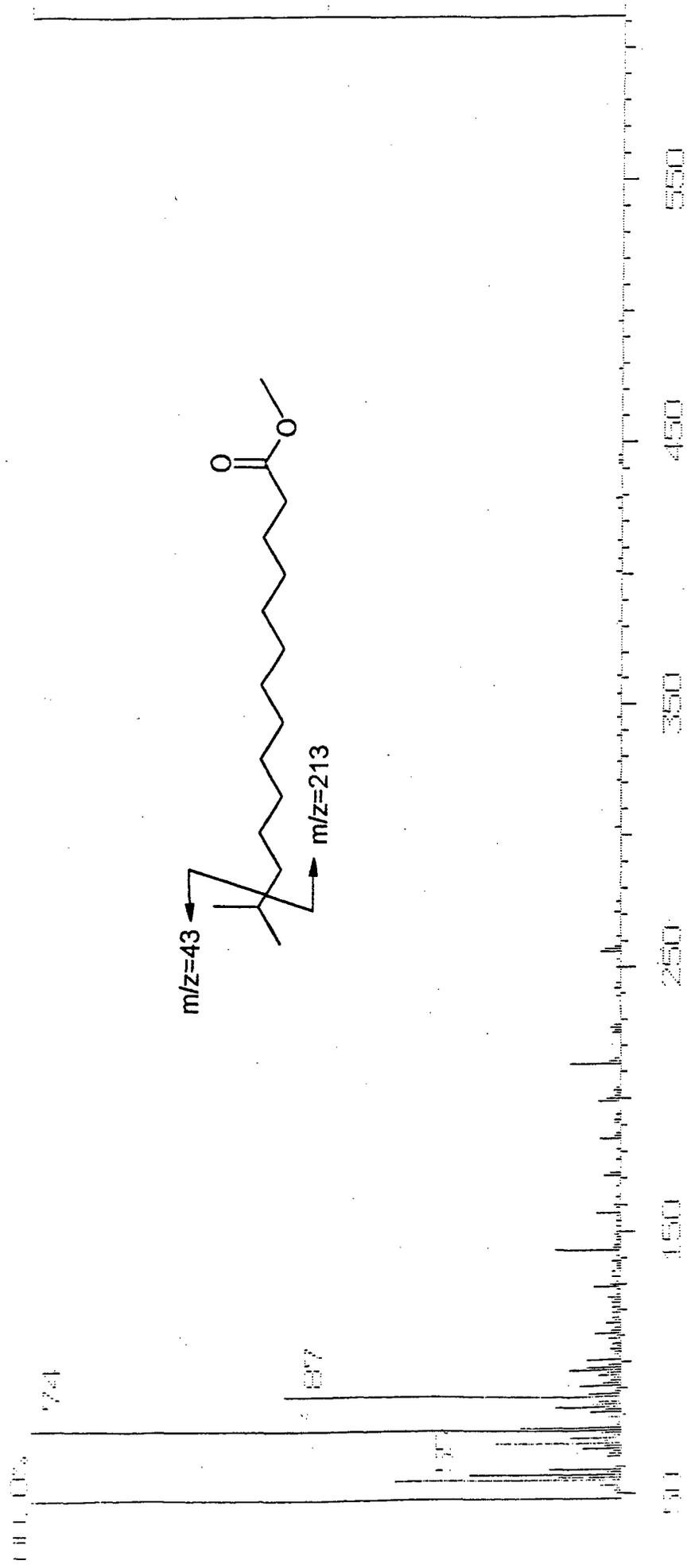


Figura 3.6 Espectro de massas do ácido iso-pentadecanóico metilado.

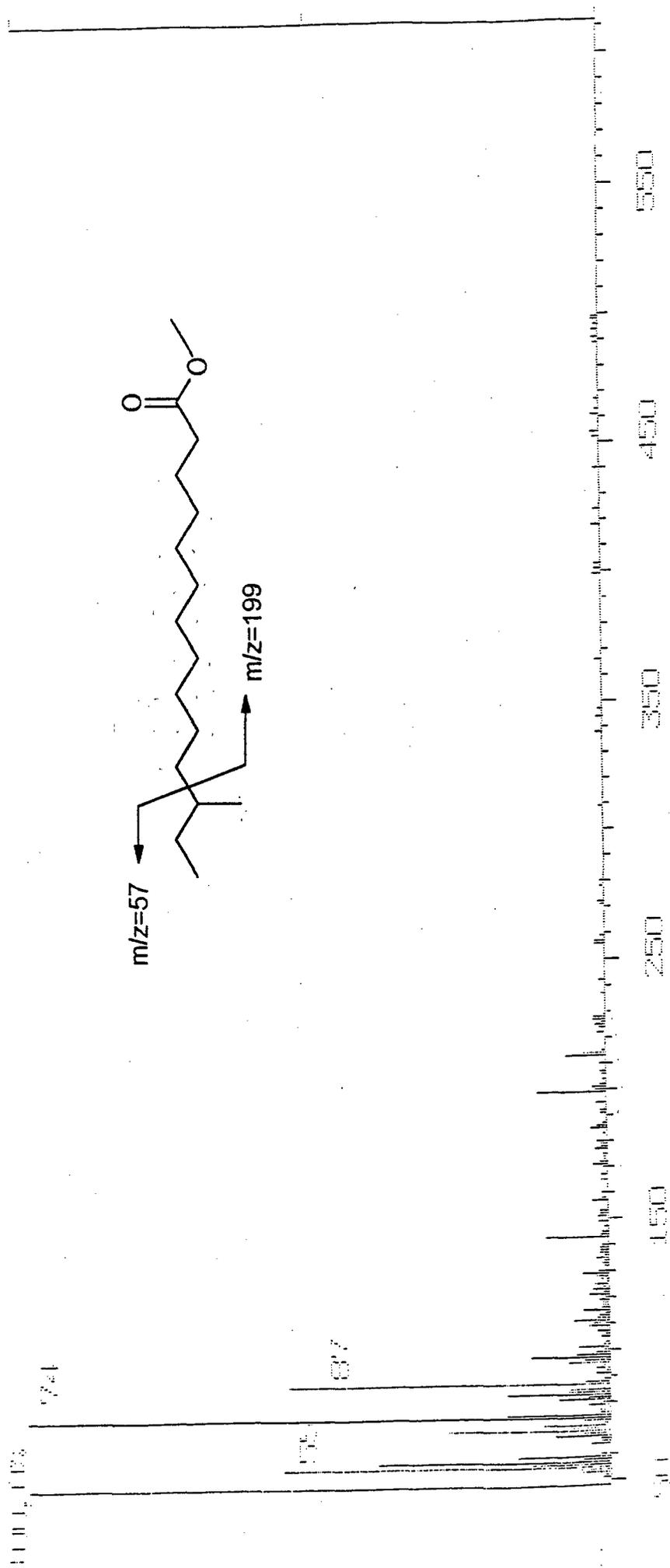


Figura 3.7 Espectro de massas do ácido anteiso-pentadecanóico metilado.

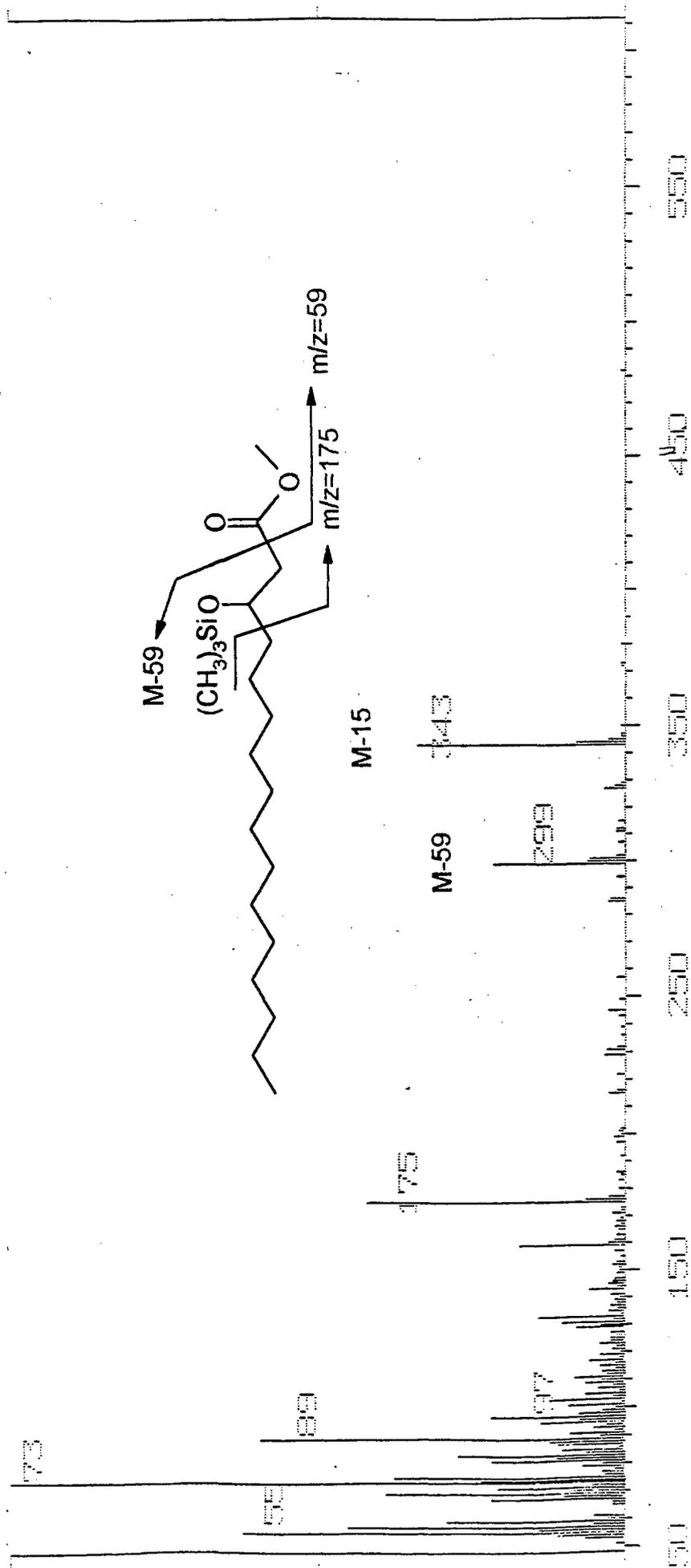


Figura 3.8 Espectro de massas do composto β -hidroxihexadecanóico silanizado e metilado.

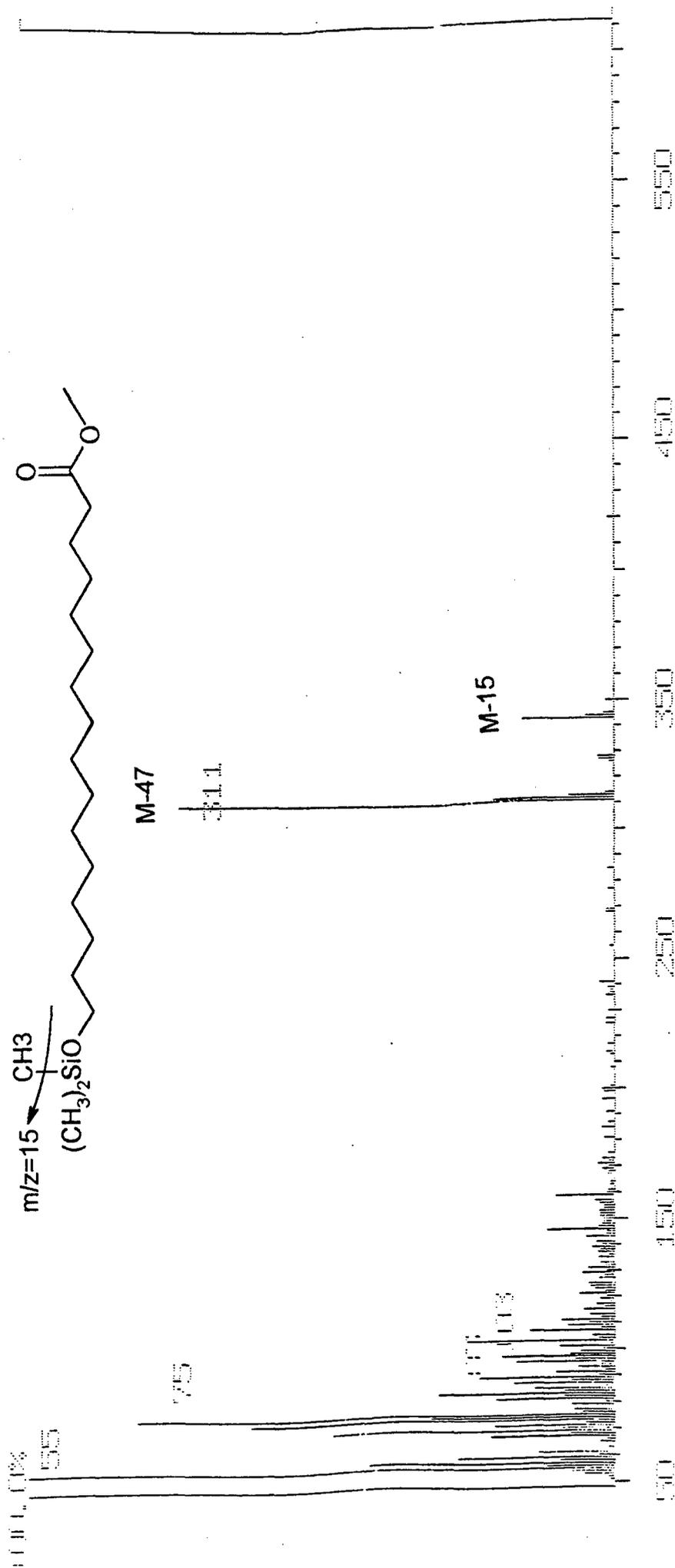


Figura 3.9 Espectro de massas do composto 16-hidroihexadecanóico silanizado e metilado.

Tabela 3.2 Lipídios livres identificados no testemunho 1 e suas concentrações em µg/g ^{3,4}

Prof.	A10	A11	A12ram	A12	A13	5-metil(?)	A14ram	A14	H17i	A15	H18r	H18i	A16i	A16	BDC(?)	H19
3		38,30	245,15	366,76	114,86	28,92	42,06	169,72	47,68	141,66	104,39	250,84	213,20	465,55	64,20	
6	37,82	76,07	312,16	474,58	113,04	41,50	339,90	141,76	84,09	130,87	175,97	305,83	97,52	287,92		19,42
9	54,32	112,42	412,22	832,22	415,45	52,21	681,76	521,32	112,91	488,32	131,17	488,85	201,72	621,86		
12	871,76	733,69	2609,81	4136,83	690,92		640,06	986,62	155,32	640,06			147,16	3053,82		
15	1,42	107,64	19,73	48,64	9,85	1,98	29,30	28,05	2,75	14,33	18,66	70,54	5,12	96,14	1,25	17,11
20	4,78	4,44	9,06	29,67	4,85	0,70	7,74	26,06	12,03	11,94	25,75	53,61	6,89	120,48	3,83	11,32
-25		2,40	1,48	6,37	2,51	1,14	2,52	12,44	5,28	6,70	16,71	13,84	3,43	73,08	1,99	
-30							1,59	11,63	2,87	5,01	9,16	5,72	1,88	61,08		
-35							2,52	9,24	3,14	3,54	10,71	6,31		70,14		
-40								10,12	4,90	3,81	8,34	7,20		50,20		

Prof.	A17	A18:1	A18	A19	BCICLO(?)	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29	A30
3	34,83	150,22	52,94	12,73		44,71	12,54	484,02	14,13	50,90	12,15	67,53	16,36	53,53		
6		99,18	45,84	8,70	5,33	19,39	4,36	117,67	9,58	41,55	12,71	54,54	11,69	31,07		
9	71,33	522,36	202,30	20,12	5,41	51,20	6,54	192,32	10,21	50,20	12,11	55,08	5,37	28,24		
12		1991,62	602,84	24,44		88,49		457,47	14,78	73,19	14,84	66,07	10,06	32,99		
15		39,36	30,19	5,25	5,79	16,38	1,51	36,39	10,23	24,59	4,67	26,15	3,80	21,05		
20		80,41	33,19	2,47	3,53	15,72	4,02	38,12	4,35	21,05	3,86	22,12	3,79	15,79		
25	4,09	30,91	26,15		4,67	10,68	4,23	101,71	2,47	15,49	2,57	16,01	2,24	8,95		
30	4,04	13,00	16,21	2,93	4,51	18,00	3,50	136,11	3,76	18,26	5,73	20,08	4,50	16,56	2,39	7,41
35	3,16	12,18	14,27	3,54		15,60	5,40	80,94	5,40	21,32	5,60	18,32	3,70	15,31		
40	2,86	10,34	12,30			13,13		71,32	3,21	16,85	4,94	18,54	3,20	7,12		

³ O ácido A18i é uma soma dos ácidos A18:1 e A18:2, pois estes não ficaram resolvidos o suficiente para serem quantificados separadamente.

Tabela 3.3 Lipídios livres identificados nos testemunhos 2, e suas concentrações em µg/g

Prof.	A10	A11	A12ram	A12	A13	5-metil(?)	H16	A14ram	A14	H17i	A15	H18r	H18i	A16i	A16	BDC(?)
3		2,05	12,32	15,45	3,22	3,24	8,77	8,94	8,32	4,90	12,34	3,20	13,24		52,32	12,22
6		3,05	15,74	19,70	5,70	5,12	10,92	18,05	10,09	6,97	11,68	5,58	24,50	11,57	38,94	
9	6,67	7,49	33,92	43,74	9,10	4,47	11,67	8,64	12,20	8,88	14,78	22,80	56,44	14,94	36,00	3,03
12		4,08	17,65	27,62	7,01	3,61	9,11	7,12	9,43	7,58	10,71	27,69	48,06	9,87	26,01	1,74
15	3,22	3,12	15,24	22,30	8,42	2,74	7,12	8,12	7,62	5,22	8,32	29,32	22,14		28,30	1,60
20		2,12	8,34	18,32	7,17	2,02	4,22	9,54	5,33	3,11	9,12	33,16	8,21	8,11	26,07	1,55
25		1,01	5,57	9,17	2,52	1,53	3,42	2,70	4,76	1,36	5,01	7,74	19,83	4,43	14,27	1,05
30		1,66	16,08	22,86	3,60	3,32	9,78	10,18	17,67	7,04	7,47	12,02	26,29	4,53	19,04	2,53
35		5,88	1,62	3,00	0,56	0,98	4,71	1,01	9,79	2,33	3,17	8,43	1,64	1,25	53,35	2,20
40		3,07	12,48	16,23	4,95	2,15	3,62	3,43	11,67	13,67	10,52	35,29	40,16	5,37	49,67	4,67
45		0,68	1,85	4,39	1,02		0,88	1,42	4,26		2,35	6,09	5,13	1,84	21,66	1,22
50		3,59	3,92	5,70	1,28			21,39	2,26		9,02	9,22	3,44	11,04	118,17	
55				1,05				12,75			5,96				39,24	
60								33,25		10,35	4,22				107,52	
65								35,21							40,23	
70								35,60							45,33	

Prof.	H19	A17	A18:1	A18	A19	BCICLO(?)	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29	A30
3	3,54	5,32	60,72	15,42			5,12	2,12	33,01	2,24	10,54	4,23	3,16	3,01	6,54		
6		4,18	32,45	11,04			2,81	1,14	10,14	2,11	7,89	2,30	1,70		3,97		
9	1,58	3,40	28,77	7,65		1,12	2,92	2,20	24,19	1,76	9,30	2,63	12,97	2,29	7,95		
12	1,14	2,25	17,32	5,04		1,16	1,92	1,71	15,92	1,69	7,11	1,85	8,93	2,18	5,59		
15	0,82	1,72	30,02	12,01	4,12	1,07	3,12	1,24	15,40	1,58	9,12	4,32	27,22	1,80	12,14		
20	0,55	1,85	48,32	13,04	4,22	1,10	4,56	2,14	16,08	1,71	8,32	6,43	17,27	1,95	22,27		
25	0,27	1,17	17,42	4,10		0,32	1,82	6,36	7,76	1,00	7,50	1,61	10,19	4,01	8,23	0,93	4,15
30	2,56	2,15	16,80	4,86		35,00	42,32	4,54	10,41	1,16	8,10	2,18	11,08	1,71	6,59		
35	1,72	8,00	17,80	26,88	1,27	3,52	17,38		71,31	10,65	15,71	13,60	15,58	2,72	9,94		
40	1,89	3,60	13,22	20,17	1,38		8,67	1,64	51,96	2,30	15,57	3,06	15,70	2,13	10,36		
45		2,08	12,11	7,50	0,75		3,91		21,53	1,49	10,89	2,08	13,85	2,76	10,60		7,19
50		3,30	18,50	36,76			24,07	2,07	121,16	11,72	92,90	16,32	116,29		102,14		57,09
55			4,55	3,87	3,02	2,01	5,76	10,66	23,95	23,19	41,2	8,68	61,2	10,83	88,92		
60			33,20	57,16			72,22		20,52	17,79	97,61	23,51	151,43	63,55	178,32		
65									17,22	10,11	34,32	14,25	65,52	39,18	170,23		
70									13,21	5,73	23,70	6,84	50,28	24,32	151,77		

⁴ Alguns compostos presentes nos cromatogramas (fig. 3.4 e 3.5) estão ausentes nas tabelas 3.2, 3.3, 3.4 e/ou 3.5, porque seus picos não estavam resolvidos o suficiente para serem quantificados.

Tabela 3.4 Lipídios ligados identificados nos testemunhos 1, e suas concentrações em µg/g

Prof.	A11	A12ram	A12	A13	A14ram	A14	A15	H19i	Pentalen o(?)	A16i	A16	H20:2	A17	A18:1	A18	OH18
3	42,12	312,24	508,90	224,20	54,30	200,74	308,32	1591,12	38,26	150,21	722,32	621,97	70,24	384,22	60,94	18,97
6	50,39	385,21	600,08	240,14	58,90	218,17	300,14	1800,34	35,12	144,22	831,54	659,83	68,31	372,27	81,39	15,32
9		271,31	300,54	108,19	72,30	180,14	98,63	932,14		81,77	319,44	202,52	50,32	203,36	72,45	12,81
12	34,30	190,14	181,34	90,13	65,55	87,16	83,39	609,18	24,30	59,91	278,31	190,01	30,99	188,05	80,16	8,29
15	22,12	188,17	170,14	30,26	54,32	40,24	70,93	504,20	30,12	25,32	181,94	70,16	25,61	89,29	61,12	8,38
20		121,01	150,32	21,29	14,20	31,68	30,24	209,86		34,90	90,12	98,43	20,14	78,17	68,87	5,14
25		72,14	90,20	18,17	8,32	35,49	24,12	312,30	25,61	30,68	50,14	49,40	31,32	50,94	50,20	5,94
30		8,94	30,15	19,27	10,12	24,50	27,90	200,10	20,18	18,13	60,39	60,81	15,38	70,12	21,30	6,10
35		54,30	60,41	28,71	3,21	21,08	20,04	109,18	19,17	13,37	74,31	88,77	17,84	68,31	20,14	14,31
40		24,17	32,94	14,99	3,70	19,25	15,14	236,76	15,30	21,88	60,94	81,98	22,27	30,19	25,94	7,12

Prof.	OHAc16	A19ram	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	OHAc22	A26:1	A26
3	15,01	28,32	20,32	60,71	24,94	24,22	24,30	30,12	18,18	20,14	60,12	70,54
6	8,70	30,12	25,32	72,91	23,17	20,32	38,73	39,14	28,11	31,16	65,95	71,17
9	6,31	25,30	19,30	35,01	12,01	19,21	30,99	32,13	15,17	30,44	31,39	60,13
12	5,87	21,18	18,14	8,17	11,21	22,88	24,11	28,71	17,88	26,53	30,19	80,92
15	3,13	26,94	9,91	14,74	8,04	10,09	21,98	14,12	29,30	18,73	21,72	50,30
20	3,98	10,77	8,79	9,32	9,95	9,32	22,30	24,30	9,30	15,25	20,94	48,17
25	7,31	12,63	8,24	8,12	7,55	8,30	15,72	18,83	15,45	20,32	8,32	46,14
30	8,87	8,36	6,30	20,14	15,32	13,14	13,64	13,24	11,83	19,14	12,14	50,90
35	6,15	7,24	3,53	17,26	9,36	10,22	11,29	8,44	10,94	21,32	4,39	30,60
40	4,30	12,31	5,17	11,82	8,40	8,17	17,89	15,29	10,71	17,70	7,70	24,81

Tabela 3.5 Lipídios ligados identificados no testemunho 2, e suas concentrações em µg/g

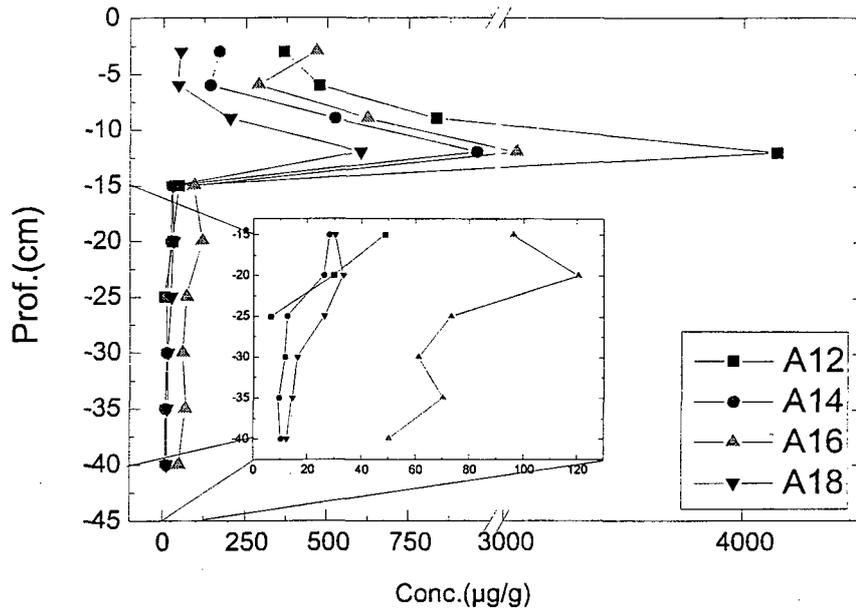
Prof.	A11	A12ram	A12	A13	A14ram	A14	Ad11	A15	H19i	Pentalen o(?)	T19i(?)	A16i	A16	OH16ram	OH16	H20:2	A17
3	66,07	36,27	70,73	24,11	26,39	84,48	2,18	69,39	1618,19	24,16	148,53	138,19	550,60	12,16	10,08	387,01	29,88
6	70,78	39,09	82,57	27,17	28,40	85,95	2,22	70,51	1717,12	24,77	148,26	137,17	549,47	12,96	10,78	415,46	30,18
9	3,53	13,94	25,16	7,40	61,05	63,47	1,38	23,66	865,93	14,90	43,22	71,57	258,91	6,82	5,39	105,59	12,65
12	2,13	12,17	21,87	7,08	12,16	35,81	0,78	18,63	787,74	81,49	49,06	51,67	150,08	2,05	5,53	111,18	9,15
15	2,22	14,32	25,32	5,40	13,14	30,18	0,90	7,24	602,12	80,12	30,18	32,12	120,32	2,00	4,20	80,94	7,66
20		12,22	17,14	6,28	24,31	30,24	0,92	5,14	608,32	92,51	25,14	24,30	91,14	1,80	3,22	115,87	5,12
25			15,30	0,81	4,00	13,50	1,35	4,10	402,08	160,83	3,49	8,59	76,02	3,42	2,25	127,66	3,12
30	3,50	11,20	13,22	9,02	33,14	53,92	1,29	24,32	420,50	158,87	14,22	66,88	244,52	4,72	2,13	125,56	13,13
35			14,22	5,44	13,22	12,23	0,88	10,55	278,33	14,33	13,22	30,22	255,22	1,22	1,30	100,54	12,55
40			25,67	3,62	4,94	19,82	0,94	9,59	624,33	13,22	5,25	18,85	294,42	1,05	30,30	89,22	7,99
45			12,11	9,48	14,22	50,04		27,41	273,63	132,57	4,22	66,46	222,62	4,66	15,22	90,32	12,71
50						16,32		10,95	200,14	10,25		45,32	200,30			30,17	14,32
55						10,21		8,52	159,32			37,25	165,52				17,32
60									80,41			18,16	99,50				14,98
65									17,14			12,41	30,22				
70													40,21				

Prof.	A18:1	A18	OH18	β-OHAc16	OHAc16	A19r	A19	Adi16	A20	A21	Adi18	A22	A23	A24	Adiram22	A25	OHAc22
3	404,37	169,33	8,04	6,36	7,83	11,15	7,70	7,28	58,51	15,23	5,49	45,02	11,71	24,15	2,77	6,35	10,91
6	375,30	175,58	7,64	6,11	8,40	10,59	9,47	12,47	61,34	16,58	5,79	43,36	11,68	23,09	3,14	6,89	11,16
9	107,77	72,56	4,54	7,76	4,74	6,36	4,68	8,89	31,49	9,91	2,97	25,21	5,89	15,77		2,95	5,76
12	101,48	47,71	3,00	2,37	3,08	4,02	3,44	5,40	23,47	6,41	2,24	20,30	5,11	14,21	0,90	2,90	4,17
15	71,30	40,32	2,89	2,44	4,90	3,80	3,37	4,31	20,18	5,32	2,18	20,18	5,03	12,84	0,91	2,70	3,21
20	68,90	35,16	2,40	2,31	5,30	3,18	2,48	4,06	19,12	2,17	1,99	14,32	3,77	12,72		1,60	2,72
25	20,73	31,87	2,02	6,15	3,21	2,29	2,02	4,12	17,90	2,08	0,67	12,48	2,69	7,23	0,89	1,15	2,85
30	134,43	73,50	8,24	3,42	2,24	4,87	4,01	10,18	33,87	3,52	5,66	28,01	4,37	12,83		2,10	5,95
35	122,58	108,23	2,44		2,12	4,37	3,84	7,22	33,22	4,52	2,20	27,29	3,22	14,22		2,21	4,22
40	124,22	122,72	1,30		2,04	4,18	3,82	5,98	28,23	35,61	1,74	43,54	16,34	88,77		2,51	3,86
45	88,82	63,25	9,03			9,45	3,42	8,21	27,00	6,65	1,32	25,91	2,76	12,67		1,80	
50	92,51	40,20					2,35		8,32	2,09	1,60	20,81	3,45	14,35		1,98	
55	83,54	32,22					3,81		9,40			22,76	4,52	15,37		2,35	
60	60,83	43,32					4,20		7,25			17,64	3,28	14,24		2,49	
65	20,32	28,30							6,32			14,22	2,71	18,32		1,18	
70	17,52	12,90										15,86	1,90	17,52		1,67	

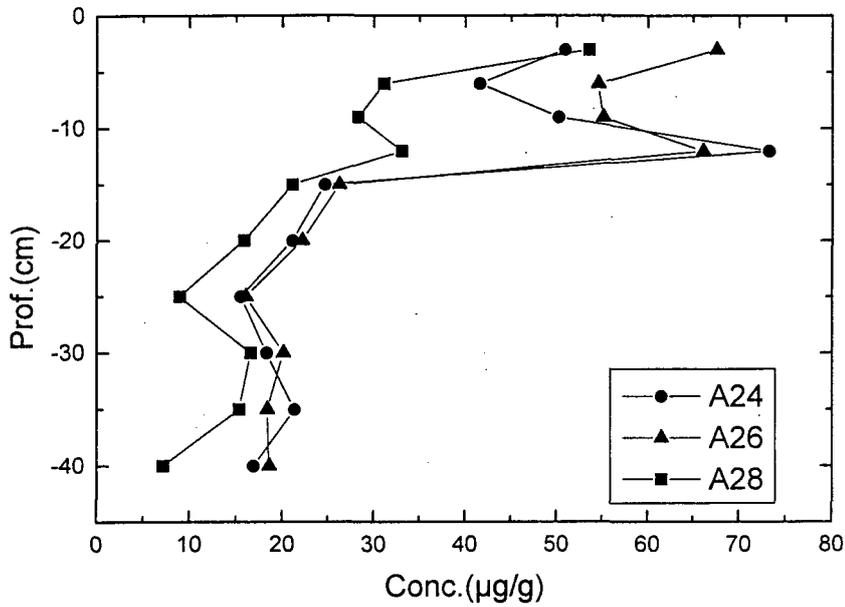
Continuação da tabela 3.5

Prof.	A26:1	A26	A28	A29	A30	OHAc26:2	OHAc26
3	24,34	27,82				17,91	7,00
6	25,73	29,18				32,11	9,79
9	16,77	43,19				7,24	
12	9,84	39,09				6,85	
15	10,21	31,11	4,43			5,10	
20	9,60	28,62	3,94			3,94	
25	8,54	26,79	3,75	4,07		3,12	
30	3,57	41,29	4,05	3,12		3,06	
35	4,32	50,32	40,32				
40	5,37	73,27	36,51	24,61	15,45	7,56	
45	6,32	35,03	30,24				
50		40,28	28,14				
55		45,40	32,60				
60		21,28	40,70				
65		18,32	55,32				
70		15,72	70,32				

As figuras 3.10, 3.11, 3.12 e 3.13, mostram as distribuições dos ácidos livres e ligados A12, A14, A16 e A18, de origem predominantemente aquática, e A24, A26 e A28 de origem predominantemente terrestre nos testemunhos 1 e 2. Para o perfil 1, a maioria destes compostos tem concentrações mais altas na superfície (até 9 ou 12 cm), e as menores concentrações nas porções mais baixas dos perfis (Fig. 3.10 e 3.11). Para o testemunho dois, a distribuição destes ácidos é mais irregular. A figura 3.12(a) apresenta os ácidos livres A12, A14, A16 e A18, no qual notamos que a concentração destes variam irregularmente, alcançando concentrações maiores nos pontos mais profundos. Este mesmo comportamento também é visto para os ácidos livres e ligados A24, A26 e A28 (Fig. 3.12(b) e 3.13(b)). Já os ácidos ligados A12 e A14 (Fig. 3.13(a)) apresentam distribuições similares àquelas dos testemunho 1, enquanto que as concentrações dos ácidos A16 e A18, também

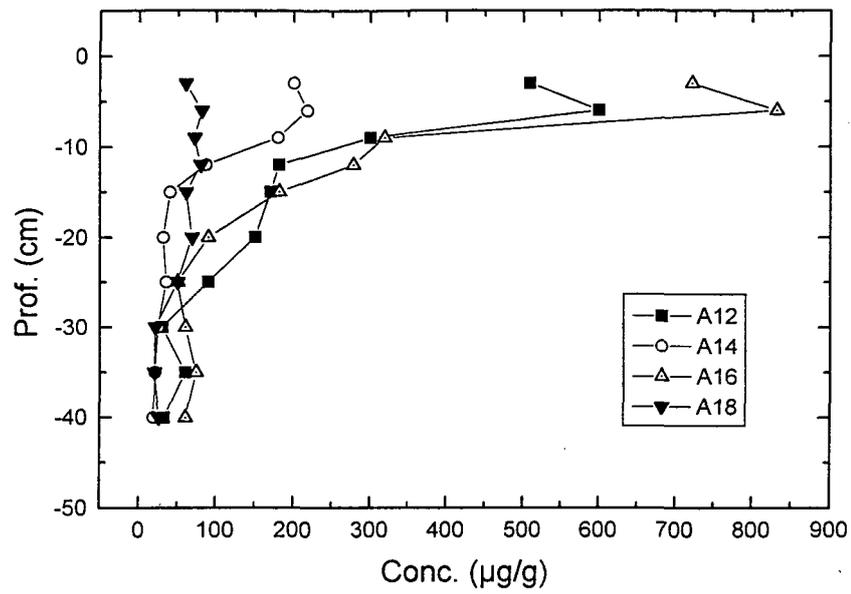


(a)

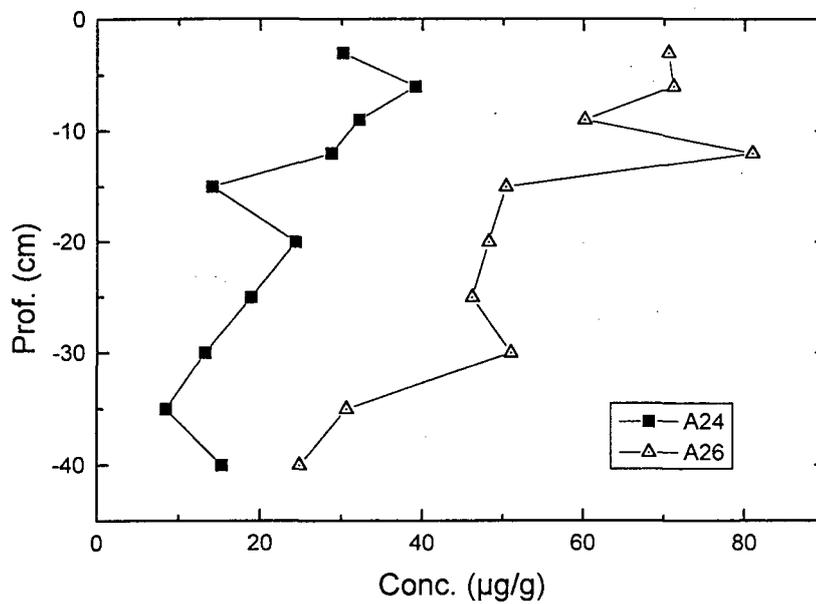


(b)

Figura 3.10 Concentração dos ácidos graxos livres (a) A12, A14, A16 e A18 e (b) A24, A26 e A28 no perfil 1

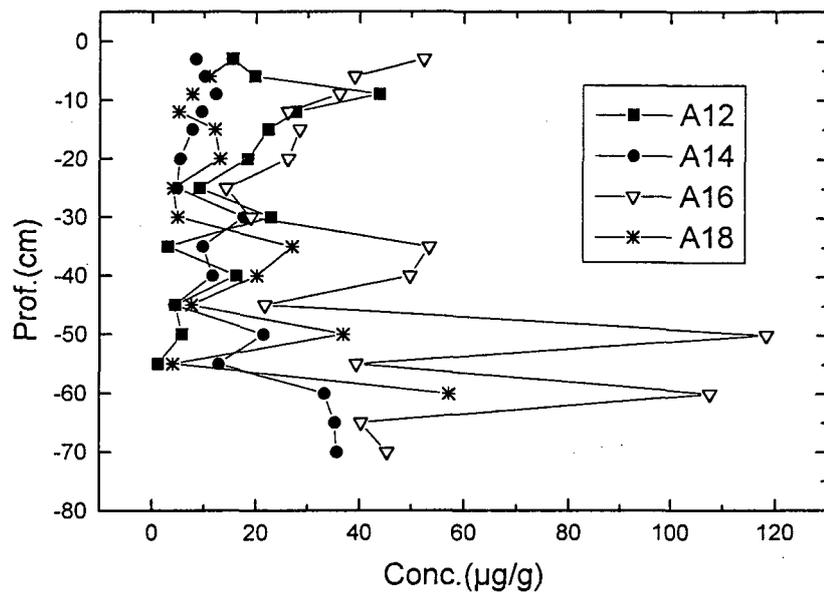


(a)

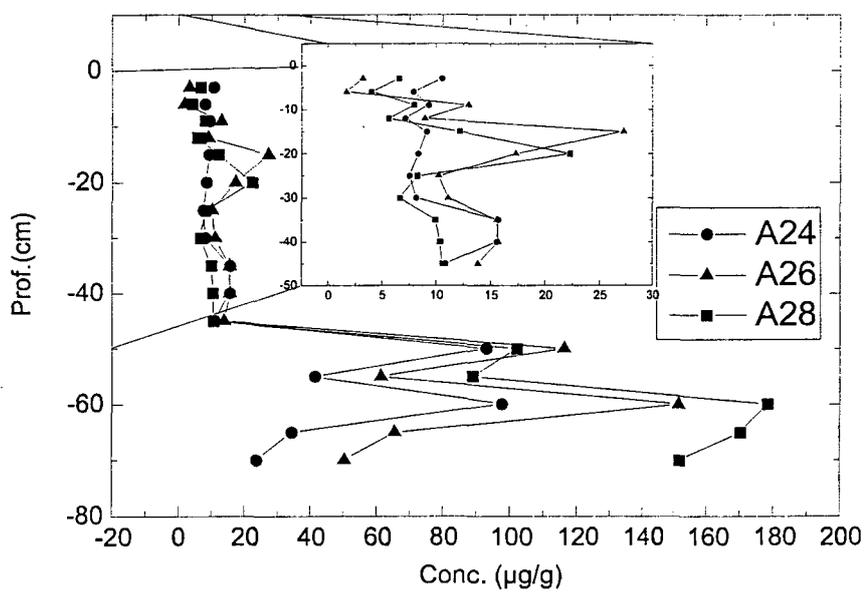


(b)

Figura 3.11 Concentração dos ácidos graxos ligados (a) A12, A14, A16 e A18 e (b) A24 e A26 no perfil 1.

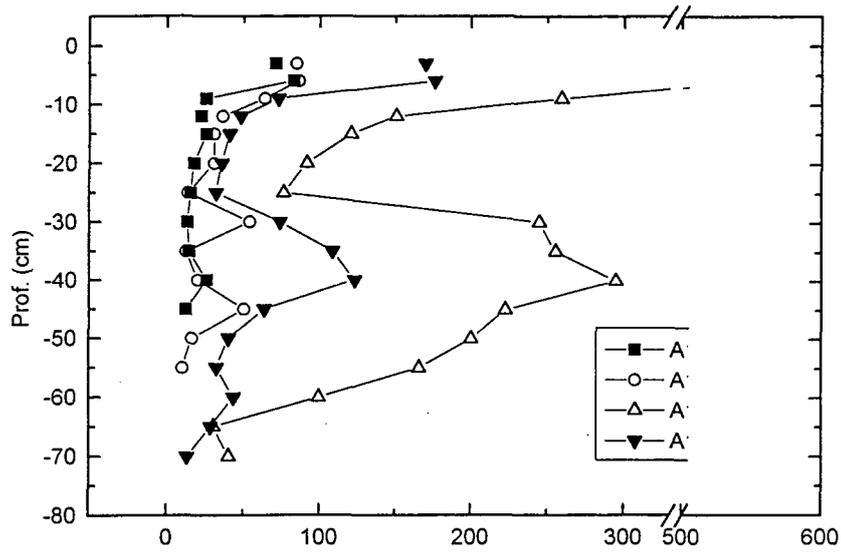


(a)

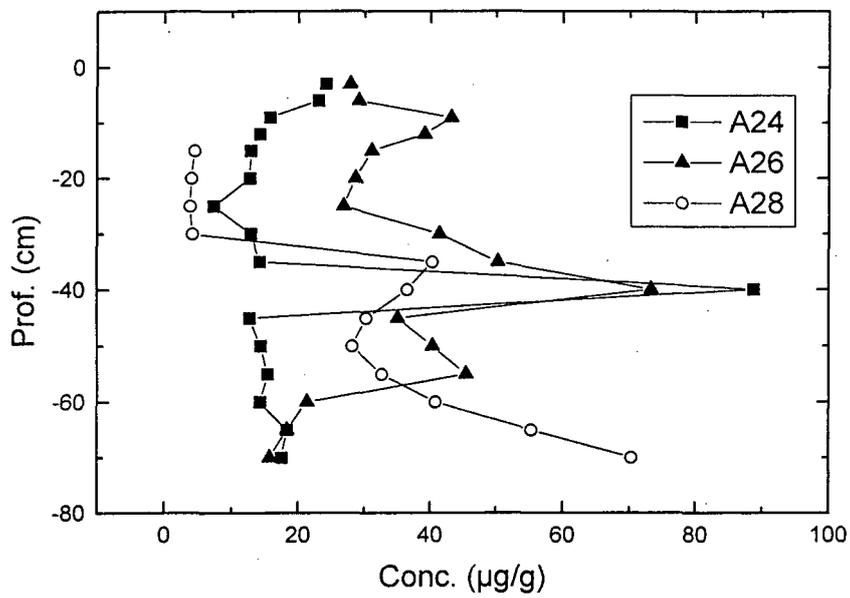


(b)

Figura 3.12 Concentração dos ácidos graxos livres (a) A12, A14, A16 e A18 e (b) A24, A26 e A28 no perfil 2.



(a)



(b)

Figura 3.13 Concentração dos ácidos graxos ligados (a) A12, A14, A16 e A18 e (b) A24, A26 e A28 no perfil 2.

aumentam na subinterface, diminuindo até 25 cm, mas sofrem um incremento significativo até a profundidade de 40 cm, e diminui quase que constantemente até 70 cm. Canuel e Martens(1996) reportam que taxas de degradação na superfície (0-2,5cm) são substancialmente superiores àquelas abaixo da interface. No entanto, seria de se esperar um decréscimo constante da matéria orgânica com o aumento da profundidade do perfil, mas isto não acontece. Este aumento na subinterface pode ser devido ao fato dos ácidos serem biossintetizados por microrganismos na camada superior do sedimento, e como estes microrganismos dependem da quantidade de oxigênio disponível no sedimento, eles sempre migram para interface, deixando de retrabalhar estes compostos.

O decréscimo após a subinterface não é constante e varia irregularmente. Devido a esta irregularidade, é difícil de dizer quais são os lipídios que degradam mais facilmente, se os ligados ou os lipídios livres. Como vários fatores controlam a degradação da matéria orgânica em sedimentos de superfície, incluindo o seu valor nutricional, sua disponibilidade química e física, e das condições ambientais sobre as quais este é depositado (Canuel & Martens, 1996), esta variação irregular pode ser devido às condições climáticas da época da sedimentação. Os lipídios ligados podem sofrer esta influência com mais intensidade, pois Lajat e co-autores (1990) conseguiram observar através da datação, uma forte relação entre o aumento da concentração de ácidos graxos ligados e o efeito El Niño em 1982-1983. Dessa forma seria interessante fazer a datação dos sedimentos, ou descobrir a taxa de sedimentação da lagoa, a fim de se correlacionar estas variações de lipídios com as condições climáticas.

Podemos ver também que os compostos de baixo peso molecular degradam mais rapidamente do que os compostos de alto peso molecular, como por exemplo, o ácido C10 livre não é mais detectado à 25cm de profundidade no perfil 1, e quase não foi detectado no perfil 2

(Tab. 3.2 e 3.3). Este fenômeno pode ser atribuído à preferência dos microrganismos por estes compostos que são catabolizados ou degradados (Matsuda & Koyama, 1977).

Como os sedimentos da Lagoa do Peri não apresentam odor característico de H_2S , e suas águas tanto de superfície como de fundo são oxigenadas (5.2 e 3.6 ppm de O_2 respectivamente, Lapolli *et al.*, 1990), pode-se dizer que estes têm características óxicas, e segundo Dydyk e co-autores (1978), este tipo de sedimento preserva menos os biolipídios do que os sedimentos anóxicos. Assim, seria esperado uma concentração maior de lipídios na Lagoa da Conceição do que na Lagoa do Peri, já que a Lagoa da Conceição tem características anóxicas (Bresciani, 1998). Como exemplo, Bresciani (1998) reporta que os ácidos de cadeia curta (C14 à C18) tem concentrações de até 600 $\mu g/g$ nos sedimentos do intervalo de 10 à 15 cm de profundidade na Lagoa da Conceição. Neste trabalho, observou-se que as concentrações desses ácidos atingem até 4.136 $\mu g/g$ na subinterface (A12 no intervalo de 9-12 cm, perfil 1, Tab. 3.2). Esta diferença de concentração pode ser devido à parâmetros que influenciam na degradação de lipídios, tais como : a taxa de sedimentação, tamanho de grão, profundidade das lagoas, origem da matéria orgânica, entre outros.

Um comportamento diferente é encontrado para a concentração dos lipídios de massa molecular maior que 23 carbonos. Como por exemplo, no testemunho 2 (Tab. 3.3), o ácido C28 tem sua menor concentração no intervalo de 3-6 cm, 3,97 $\mu g/g$, enquanto que nos últimos intervalos este valor aumenta até 178 $\mu g/g$.

Outros valores que se destacam são dos lipídios livres de baixo peso molecular do perfil 1 no intervalo entre 9 e 12 cm. O ácido C12, por exemplo, aumenta significativamente de 832,22 $\mu g/g$ na porção de 6-9 cm, para 4.136,83 $\mu g/g$, no intervalo de 9-12 cm.. Este aumento abrupto não é visto para os ácidos de peso molecular maior.

O ácidos carboxílicos de maior concentração nas amostras de superfície são os ácidos C12, C14 e C16. Certas classes de microalgas apresentam abundância de ácidos C14 e C16, como as diatomáceas e primnisiofitas (Volkman *et al.*, 1989).

A concentração de lipídios totais baseados na área total dos cromatogramas estão expostos na Tabela 3.6. Os valores das concentrações no testemunho 1 são muito maiores do que os apresentados no testemunho 2. Isto talvez se deva ao fato do testemunho 1 ter sido retirado de uma região da lagoa mais próxima às cachoeiras, significando um maior aporte de matéria orgânica. Além disso, uma vez que o tamanho do grão de sedimentos afeta a distribuição da matéria orgânica (Hebbeln & Berner, 1993; Jeng & Chen, 1995), apesar de que nenhuma descrição litológica foi feita, pode-se observar que no testemunho 1 o tamanho de grão é menor do que aqueles do testemunho 2, o qual foi coletado mais próximo da região arenosa da lagoa.

A concentração total dos lipídios próximo à superfície pode ser comparada àquela encontrada por Canuel e Martens (1993) na Baía Cape Lookout, Carolina do Norte, EUA, em que variam sazonalmente entre 1.8 a 5.4 mg/g. Estes valores para os sedimentos da superfície da Lagoa do Peri nos pontos amostrados variam de 0,9 a 6,4 mg/g. Por outro lado, apesar desta grande variação na concentração de lipídios, os índices calculados com base na distribuição dos ácidos carboxílicos não são diferentes o bastante para indicar variações na origem da matéria sedimentada. Pois através dos valores de RTA dos ácidos livres (Tabela 3.7) e C/N (Tabela 3.1) do perfil 2, pode-se notar a predominância da matéria orgânica aquática nos sedimentos até 40 cm de profundidade, em que $C/N \leq 10$ e $RTA < 1$. Após 40 cm, C/N torna-se maior do que 10 e menor do que 20, e $RTA > 1$. Este resultado sugere que a matéria orgânica seja de origem tanto aquática como terrestre (figura 3.14). Os valores de RTA dos ácidos livres para o perfil 1

também são menores do que um para todos intervalos de até 40 cm de profundidade, indicando que a matéria orgânica livre neste ponto também é de origem predominantemente aquática. Os valores de RTA para os ácidos ligados dos perfis 1 e 2 são iguais para os sedimentos de superfície, indicando que a matéria orgânica ligada nestes dois pontos tem origem aquática muito semelhantes, e de modo análogo aos valores de RTA para os ácidos livres, este aumenta em relação a profundidade, atingindo valores de 3,04 e 2,58 em profundidades de 65 e 70 cm, respectivamente. Com base no perfil 2, pode-se dizer que a matéria sedimentar da lagoa foi no passado, mais rica em compostos de origem terrestre, devido ao aumento dos valores de RTA decorrente de um aumento na concentração dos ácidos terrestres.

Para se calcular o IPC dos ácidos carboxílicos (Tabela 3.8), usou-se o fragmentograma de massas $m/z=74$. Com este procedimento pôde-se, inclusive, identificar e analisar as áreas dos ácidos A30 e A32. Este índice, o IPC, também confirma a presença da matéria terrestre, pois os valores de IPC são maiores do que 2. Além disso, como os valores calculados para os três pontos do perfil 2, e para os dois pontos calculados no perfil 1 são próximos, pode-se inferir que apesar de existir uma variação na concentração dos ácidos carboxílicos de cadeia longa ($C>20$), existe uma significativa semelhança na distribuição entre eles.

Tabela 3.6 Concentrações totais de lipídios ligados e livres em µg/g nos perfis 1 e 2.

Profund.(cm)	Perfil 1(livre)	Perfil 1(ligado)	Perfil 2(livre)	Perfil 2(Ligado)
3	6375	1023	958	542
6	4328	832	388	789
9	10532	736	673	1248
12	27622	420	511	877
15	1261	327	582	511
20	825	365	476	394
25	553	517	248	375
30	383	600	439	1306
35	296	746	389	1281
40	248	482	356	1486
45	-	-	302	1136
50	-	-	1267	1201
55	-	-	346	483
60	-	-	1311	988
65	-	-	499	1043
70	-	-	552	738

Tabela 3.7 Resultados das Razões Terrestre Aquático para os Ácidos Carboxílicos dos Testemunhos 1 e 2.

Profund.(cm)	Livres		Ligados	
	RTA(Perfil 1)	RTA(Perfil 2)	RTA(Perfil 1)	RTA(Perfil 2)
3	0,17	0,27	0,07	0,07
6	0,14	0,20	0,07	0,07
9	0,07	0,33	0,12	0,17
12	0,02	0,34	0,20	0,26
15	0,42	0,83	0,16	0,28
20	0,33	0,96	0,27	0,33
25	0,44	0,92	0,37	0,36
30	0,76	0,43	0,56	0,19
35	0,69	0,62	0,25	0,37
40	0,72	0,54	0,35	0,58
45	-	1,17	-	0,27
50	-	2,14	-	0,38
55	-	3,61	-	0,53
60	-	3,04	-	0,77
65	-	3,58	-	3,04
70	-	2,79	-	2,58

Tabela 3.8 Índices de Preferência de Carbono dos Ácidos Carboxílicos livres para os testemunhos 1 e 2.

Profund.(cm)	IPC(1)	IPC(2)
6	5,5	-
9	-	5,8
40	5,7	5,5
70	-	5,0

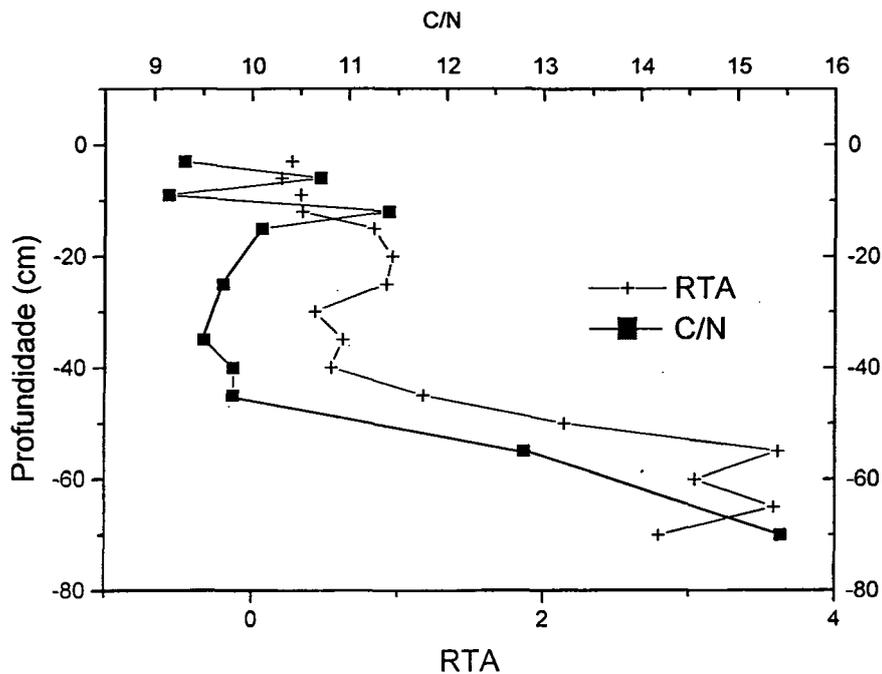


Figura 3.14 Razões C/N e RTA para os sedimentos do testemunho 2.

Para analisar a diagênese dos três grupos químicos apresentados neste trabalho, comparou-se as concentrações dos feopigmentos, proteínas solúveis, lipídios livres e ligados das profundidades de 20, 40 e 70cm com as concentrações encontradas nas superfícies. A tabela 3.9 mostra o percentual destas profundidades em relação àquelas da superfície.

A 20 cm, observa-se que, em geral, os valores mais baixos de concentração em relação à superfície são os de lipídios livres, seguido por lipídios ligados, feopigmentos e proteínas solúveis. Esta ordem se altera quando observamos os resultados a 40 cm, que torna-se : feopigmentos, lipídios livres, proteínas totais e lipídios ligados. Já em relação a 70 cm, a ordem de degradação se torna : Feopigmentos, Proteínas Totais, Lipídios Livres e Lipídios Ligados. Colombo e co-autores (1996) também notaram que a ordem de reatividade de cada grupo se altera com a profundidade. Incluindo apenas os grupos que foram analisados neste trabalho, eles apresentaram a seguinte ordem de reatividade a superfície: feopigmentos > lipídios livres > proteínas. Enquanto que para sedimentos mais profundos, a ordem de reatividade é : feopigmentos > proteínas > lipídios livres. Esta última seqüência, concorda com a da Lagoa do Peri a 70 cm. Ainda, segundo Colombo e co-autores (1996) estas mudanças indicam que os lipídios são importantes substratos perto da interface sedimento/coluna d'água enquanto que os outros grupos químicos constituem a principal fonte de energia em camadas de sedimentos mais profundas. Podemos acrescentar que a degradação destas classes químicas dependem do tipo de diagênese que ocorre a cada camada de sedimento. Na superfície, podemos dizer que há uma quantidade maior de microrganismos e oxigênio, favorecendo a degradação biológica e química (oxidação), enquanto que para camadas mais profundas, as condições físicas se alteram, como por exemplo, o tamanho do grão.

Tabela 3.9 Percentuais das concentrações de Feopigmentos, Proteínas solúveis, Lipídios Livres e Ligados nas profundidades de 20, 40 e 70 cm em relação à superperfície (0-3 cm).

Prof. (cm)	Feopigmentos		Proteínas totais		Lipídios Livres		Lip. Ligados	
	Test. Um	Test. Dois	Test. Um	Test. Dois	Test. Um	Test. Dois	Test. Um	Test. Dois
20	57,4%	61,8%	79,9%	106,0%	12,9%	49,7%	35,7%	72,6%
40	10,7%	8,19%	45,7%	30,7%	3,90%	37,2%	47,1%	273,7%
70		6,31%		12,3%		57,6%		135,9%

Em relação a remineralização do carbono orgânico, observa-se que o percentual do carbono orgânico (Tab. 3.1) apresenta uma rápida remineralização entre as profundidades de 55 cm e 70 cm. Este decréscimo não é observado para as concentrações dos lipídios (Tab. 3.6), indicando que esta remineralização do carbono orgânico é decorrente de outros grupos químicos, e menos acentuada para os lipídios.

3.5.3 OUTROS BIOMARCADORES

Alcanos de cadeia molecular com número de carbono ímpar e de alto peso molecular (C27, C29 e C31) são frequentemente usados para inferir sobre a entrada de matéria orgânica de origem terrestre em ambientes aquáticos, já que estes compostos constituem as ceras das folhas de plantas (Volkman *et al.*, 1980). No entanto, estes compostos não foram identificados em nenhum intervalo de ambos os testemunhos, o que pode indicar uma rápida degradação destes antes da deposição no fundo do lago, já que esta lagoa é cercada pela Mata Atlântica.

De forma análoga ao que foi observado por Cranwell e co-autores (1987), os ácidos iso e anteiso pentadecanóico, constituintes da parede celular, são biomarcadores de bactérias, e também foram encontrados em uma fração abaixo da interface sedimento/água.

Os hidroxiácidos estão presentes em uma larga variedade de microrganismos, tais como: bactéria, fungos, cianobactéria e plantas superiores, mas a posição do grupo hidroxila pode indicar com mais precisão a origem destes compostos (Matsumoto *et al.*, 1988). Neste trabalho foram identificados cinco hidróxiácidos: β -hidróxipentadecanóico, 15-hidroxipentadecanóico, hidroxidocosanóico, hidroxihexacosanóico e hidroxihexacosenóico.

Um dos hidróxiácidos quantificados por Matsumoto e Colaboradores (1988), em amostras de sedimentos de lagos da Antártica, que também está presente nos sedimentos da Lagoa do Peri é o hidroxiácido C26. Naqueles sedimentos, este ácido foi predominante em quase todas as amostras em uma concentração que varia entre 0,015 e 8.3 $\mu\text{g/g}$, concorrendo com o que fora observado no perfil 2. Eles também estudaram extratos de cianobactérias que habitam alguns dos sedimentos óxidos destes lagos, e notaram que o hidroxiácido C26 também predominou, alcançando proporções de 50% dos hidroxiácidos totais. Portanto, este ácido pode ser um bom indicador da presença de cianobactérias nos sedimentos da Lagoa do Peri. Em nosso trabalho, um hidroxiácido de mesmo número de carbonos com dupla insaturação também foi encontrado com uma concentração de 32 $\mu\text{g/g}$ na amostra de 3 a 6 cm, enquanto que para os lagos da Antártica, hidróxiácidos com duplas ligações não foram citados. Em relação aos β -hidroxiácidos, acredita-se que estes não são produzidos pela β -oxidação dos ácidos carboxílicos correspondentes (Cranwell, 1981), pois há uma grande diferença na distribuição destes ácidos em nossas amostras.

Quatro ácidos dicarboxílicos foram encontrados no testemunho 2, sendo eles de 9, 11, 16 e 18 carbonos. A origem destes ácidos é

geralmente atribuída à plantas superiores, mais especificamente à camadas que protegem os tecidos de plantas, como a cutina e suberina (Killops & Killops, 1993)

Na região acima de 40 minutos da figura 3.5, notou-se a presença de vários hidroxiácidos e ácidos dicarboxílicos de alto peso molecular. Enquanto que na figura 3.4, nesta mesma região, foram identificados triterpenos do tipo hopano com base nos fragmentos característicos m/z 191, 263 e 149. Estes hopanos são considerados como biomarcadores de bactérias (Cranwell *et al.*, 1987).

4. CONCLUSÕES

- Através dos índices calculados neste trabalho (RTA, C/N), pode-se inferir que a matéria orgânica sedimentada na Lagoa do Peri pode ser considerada de origem predominantemente autóctone até 45 cm, sendo que, a partir deste ponto, ocorre também uma forte influência do material de origem terrestre. Além disso, através de razões C/N, conclui-se que o sedimento do fundo da Lagoa nos pontos analisados podem ser caracterizados como do tipo copropel, e como seu teor de matéria orgânica é maior do que 10%, este é classificado como orgânico. Outra razão, H/C, indica que os compostos presentes nos sedimentos da Lagoa do Peri, contém um alto teor de núcleos aromáticos e de moléculas poliinsaturadas. Estas moléculas devem ser em sua maior parte ácidos húmicos e fúlvicos, já que os lípidios identificados quase não possuem insaturações.

- Como os sedimentos da Lagoa do Peri não apresenta odor de H₂S, e o fundo do Lagoa apresenta uma quantidade considerável de O₂ (Lapoli *et al.*, 1993), acredita-se que o sedimento tenha características óxidas.

- O método de análise de proteínas de Bradford (1976) pode ser aplicado a amostras de sedimentos com boa precisão. Em relação às análises de feopigmentos, conclui-se que estas podem ser feitas com soluções de absorção menores do que aquelas mencionadas por Carmouse (1988) com boa precisão.

- Como em vários outros ambientes citados na literatura, os sedimentos da Lagoa do Peri apresentaram uma predominância de ácidos carboxílicos com um número de carbonos pares e uma distribuição bimodal, com dois máximos nas faixas entre C14 e C18, e C24 e C28. Em relação aos ácidos graxos de cadeia longa, pode-se

concluir que apesar de existir uma alteração na concentração com a profundidade, não há nenhuma mudança significativa na distribuição entre eles. Já a irregularidade na concentração dos lipídios, no grau e ordem de diagênese dos grupos químicos em relação à profundidade, pode ser devido as condições do ambiente na época em que eles foram depositados. Outro ponto importante é a diferença de concentração dos lipídios que existe entre os perfis, que talvez seja devido ao tamanho de grão dos pontos amostrados.

- Vários biomarcadores de bactérias foram encontrados nos sedimentos da Lagoa do Peri, e uma concentração maior de ácidos iso e anteiso foram identificados no intervalo de 9 a 12 cm, justamente onde há uma maior concentração dos ácidos de cadeia menor que 18 carbonos, indicando uma maior concentração de bactérias neste intervalo. Além disso, a presença do hidroxiácido C26 e de β -hidroxiácidos indica a presença de cianobactérias.

- Biomarcadores de plantas superiores também estão presentes nos sedimentos analisados, indicando que, mesmo em pouca quantidade, em todo testemunho há contribuição de matéria orgânica de origem alóctone.

- A clorofila-a sofre uma rápida degradação na coluna d'água da Lagoa, já que os produtos de sua degradação inicial não foram identificados nos sedimentos.

- Não há indícios de poluição de combustíveis fósseis na Lagoa, uma vez que não foram observados hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e hidrocarbonetos saturados.

BIBLIOGRAFIA

- ALBUQUERQUE, A. L. S. & MOZETO, A. A. C:N:P Ratios and stable carbon isotope compositions as indicators of organic matter sources in a riverine wetland system (Mogi-Guaçu River, São Paulo-Brazil). *Wetlands*, 17(1), 1-9, 1997.
- ASSUMPÇÃO, D. T. G.; TOLEDO, A.P.P. & AQUINO, V. A. Levantamento Ecológico da Lagoa da Conceição - (Florianópolis - Santa Catarina) 1 : Caracterização - Parâmetros Ambientais. *Ciência e Cultura*, 33(8), 1096-1101, 1981.
- BOURBONNIERE, R. A. & MEYERS, P. A. Sedimentary geolipid records of historical changes in the watersheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. *Limnol. Oceanogr.* V.41, N. 2, p.352-359, 1996.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254, 1976.
- BRESCIANI, L. F. V. Avaliação da Composição Orgânica dos Sedimentos de Fundo da Lagoa da Conceição - Ilha de Santa Catarina - SC. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. 1998.
- CANUEL, E.A. & MARTENS, C. S. Seasonal variations in the sources and alteration of organic matter associated with recently-deposited sediments. *Org. Geochem.*, 20(5), 563-577, 1993.
- CANUEL, E.A. & MARTENS, C. S. Reactivity of recently deposited organic matter: Degradation of lipid compounds near the sediment-water interface. *Geochim. Cosmochim. Acta.* V.60, N.10, p.1793-1806, 1996.

CARMOUZE, J. P. **O metabolismo dos ecossistemas aquáticos : Fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas.** Editora Edgard Blucher Ltda : FAPESP. São Paulo. 1994.

CHARLES, D. F. & SMOL, J. P. **Long-term Chemical Changes in Lakes: Quantitative Interferences from Biotic Remains in the Sediment Record.** In : Environmental Chemistry of Lakes and Reservoirs. Baker, L. A. American Chemical Society. Washington, 1994.

COLE, G. A. **Textbook of Limnology.** 2^o ed. The C. V. Mosby Company. 1979.

COLOMBO, J. C.; SILVERBERG, N. & GEARING, J. N. Biogeochemistry of organic matter in the Laurentian Trough, II. Bulk Composition of the Sediments and Relative Reactivity of Major Components During Early Diagenesis. **Marine Chemistry**, 51, 295-314, 1996.

CRANWELL, P. A. The stereochemistry of 2- and 3-hydroxi fatty acids in a Recent Lacustrine sediment. **Geochim. Cosmochi. Acta**, 45, 547-552, 1981.

CRANWELL, P. A.; EGLINTON, G. & ROBINSON, N. Lipids of aquatic organisms as potential contributors to lacustrine sediments-II. **Org. Geochem.**, 11(6), 513-527, 1987.

DIDYK, B. M.; SIMONEIT, B. R. T.; BRASSELL, S. C. & EGLINTON, G. Organic geochemical indicators of palaeoenvironmental conditions of sedimentation. **Nature**, V. 272, p.216-222, 1978.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de Limnologia.** Ed. Interciência Ltda. Rio de Janeiro. 1988.

- EGLINTON, G. & HUNNEMAN, D. H. Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Studies of Long Chain Hydroxy Acids - III. **Organic Mass Spectrometry**, 1, 593-611, 1968.
- FARRINGTON, J. W. & TRIPP, B. W. Hydrocarbons in western North Atlantic surface sediments. **Geochim. Cosmochim. Acta**, 41, 1627-1641, 1977.
- FUKUSHIMA, K.; MOCHIZUKI, M.; HAYASHI, H.; ISHIKAWA, R.; UEMURA, H.; OGURA, K. & TANAKA, A. Long-chain anteiso compound series found in acidified freshwater lake sediments in Japan : Lake Tazawa-ko. **Geochem. Journal**, 30, 111-130, 1996.
- HARVEY, H. R.; EGLINTON, G.; O'HARA, S. C. M. & CORNER, E. D. S. Biotransformation and assimilation of dietary lipids by *Calanus* feeding on a dinoflagellate. **Geochim. Cosmochim. Acta**. V. 51, 3031-3040, 1987.
- HARVEY, H. R. Fatty acids and sterols as source markers of organic matter in sediments of the North Carolina continental slope. **Deep-Sea Research II**. V. 41, N.4-6, 783-796, 1994.
- HEBBELN, D. & BERNER, H. Surface Sediment Distribution in the Fram Strait. **Deep-Sea Research I**, 40(9), 1731-1745, 1993.
- JENG, WOEI-LIH & CHEN, MIN-PEN. Grain size effect on bound lipids in sediments off northeastern Taiwan. **Org. Geochem.**, 23(4), 301-310, 1995.
- KAWAMURA, K.; ISHIWATARI, R. & OGURA, K. Early diagenesis of organic matter in the water column and sediments: Microbial degradation and resynthesis of lipids in Lake Haruna. **Org. Geochem.** V.11, p.251-264, 1987.

KILLOPS, S. D & KILLOPS, V. J. **An Introduction to Organic Geochemistry.** Longman Scientific & Technical. New York. 1993.

LAJAT, M.; SALIOT, A. & SCHIMMELMANN, A. Free and bound lipids in recent (1835-1987) sediments from Santa Barbara Basin. **Org. Geochem.**, 16(4-6), 793-803, 1990.

LAPOLLI, E. M.; MOREIRA, J. C.; ZARDO, S. M. & VIEIRA, V. F. **Carta dos Elementos do Meio Ambiente - Parque da Lagoa do Peri.** Florianópolis, 1993.

LAUREILLARD, J.; PINTURIER, L; FILLAUX, J. & SALIOT, A. Organic geochemistry of marine sediments of the Subantarctic Indian Ocean sector : Lipid classes-sources and fate. **Deep-Sea Research II**, 44, 1085-1108. 1997.

LEENHEER, J. A. **Chemistry of Dissolved Organic Matter in Rivers, Lakes, and Reservoirs.** In : Environmental Chemistry of Lakes and Reservoirs. Baker, L. A. American Chemical Society. Washington, 1994.

LORENZEN, C. J. Chlorophyll degradation products in sediments of Black Sea. **The Black Sea-geology, chemistry and biology, memoir 20**, 1974.

MADUREIRA, L. A. S.; CONTE, M. H. & EGLINTON, G. Early diagenesis of lipid biomarker compounds in North Atlantic sediments. **Paleoceanography**, V. 10, p.627-642, 1995.

MADUREIRA, L. A. S. Lipídios como indicadores de mudanças climáticas no passado 1 : Biomarcadores Marinhos. **Quim. Nova**, V. 20, N. 3, p.293-299, 1997.

MANAHAN, S. E. **Environmental Chemistry**. 5 ed. Lewis Publishers, Inc. 1991.

MATSUDA, H. & KOYAMA, T. Early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments-I. Identification and distribution of fatty acids in recent sediment from a freshwater lake. **Geoch. et Cosmoch.**, 41, 777-783, 1977.

MATSUMOTO, G. I.; WATANUKI, K. & TORII, T. Hydroxy Ácids in Antarctic Lake Sediments and Their Geochemical Significance. **Organic Geochem.**, 13(4-6), 785-790, 1988.

MEYERS, P. A.; BORBONNIERE, R.A. & TAKEUCHI, N. Hydrocarbons and fatty acids in two cores of Lake Huron Sediments. **Geochim. Cosmochim. Acta**. V. 44, p.1215-1221, 1980.

MEYERS, P.A. & ISHIWATARI, R. Lacustrine Organic Geochemistry-na overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. **Org. Geochem**, 20 (7), 867-900, 1993.

MOZETO, A. A.; NOGUEIRA, F. M. B. & ESTEVES, F. A. Caracterização das fontes de matéria orgânica dos sedimentos da represa do lobo (SP) através do uso da composição de carbono-13. **Acta Limnol. Brasil.**, 11, 943-963, 1988.

NEVEUX, J. & LANTOINE, F. Spectrofluorometric Assay of chlorophylls and phaeopigments using the least squares approximation technique. **Deep-Sea Research I**, 40(9), 1747-1765, 1993.

PARSONS, T. R.; MAITA, Y. & LALLI, C. M. **A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis**. Pergamon Press. 1984.

- PEEKEN, I. Photosynthetic pigment Fingerprints as Indicators of Phytoplankton Biomass and Development in Different Water Masses of the Southern Ocean During Austral Spring. **Deep-Sea Research II**, 44(1-2), 261-282, 1997.
- PORTO FILHO, E. Sedimentometria e Algumas Considerações Sobre a Biogeoquímica dos Sedimentos de Fundo da Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. 1993.
- RADETSKI, C. M. Interet de L'utilisation de quelques enzymes du stress oxydant chez les vegetaux : relations avec les tests de phytotoxicite et de phytogenotoxicite. Tese de Doutorado. Universite de Metz. p. 76, 1996.
- ROGERSON, J. H. & JOHNS, R.B. A geolipid characterization of Organic Lake - a hypersaline meromitic Antarctic Lake. **Org. Geochem.** V.25, N.1/2,1-8, 1996.
- RIAUX-GOBIN, C.; HARGRAVES, P. E.; NEVEUX, J.; ORIOL, L. & VÉTION, G. Microphyte pigments and Resting Spores at the Water-Sediment Interface in the Subantarctic Deep Sea (Indian Sector of the Southern Ocean. **Deep-Sea Research II**, 44(5), 1033-1051, 1997.
- RIELEY, G.; COLLIER, R.J.; JONES, D.M. & EGLINTON, G. The biogeochemistry of Ellesmere Lake, U.K. - I: source correlation of leaf wax inputs to the sedimentary lipid record. **Org. Geochem.** Vol. 17, N. 6, p.901-912, 1991.

- SALIOT, A.; LAUREILLARD, J.; SCRIBE, P. & SICRE, M. A. Evolutionary Trends in the Lipid Biomarker Approach for investigating the Biogeochemistry of Organic Matter in the Marine Environment. **Marine Chemistry**, 36, 233-248, 1991.
- SICRE, M. A., PAILLASSEUR, J. L. & MARTY, J. C. Characterization of seawater samples using chemometric methods applied to biomarker fatty acids. **Org. Geochem.**, V. 12, (3), p.281-288, 1988.
- TISSOT, B. P. & WELTE, D. H. **Petroleum Formation and Occurrence**. 2. Ed. Springer-Verlag. 1984.
- VAN VLEET, E. S. & QUINN, J. G. Diagenesis of marine lipids in ocean sediments. **Deep-Sea Research**. V. 26A, p.1225-1236, 1979.
- VOLKMAN, J. K.; JOHNS, R. B.; GILLAN, F.T. & PERRY, G. J. Microbial Lipids of an Intertidal Sediment- I. Fatty Acids and Hydrocarbons. **Geochem. Cosmochimica.**, 44, 1133-1143, 1980.
- VOLKMAN, J. K.; JEFFREY, S. W.; NICHOLS, P. D.; ROGERS, G. I. & GARLAND, C. D. Fatty Acid and lipid composition of ten species of microalgae used in mariculture. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 128, 219-240, 1989.
- WAKEHAN, S. G. & CANUEL, E. A. Fatty Acids and Sterols of Particulate Matter in a Brackish and Seasonally Anoxic Coastal Salt Pond. **Org. Geochem.**, 16(4-6), 703-713, 1990.
- WETZEL, R. G. **Limnology**. W. B. Saunders Company. 1975.

WILLIAMS, R & CLAUSTRE, H. Photosynthetic pigments as biomarkers of phytoplankton populations and processes involved in the transformation of particulate Organic Matter at the Biotrans Site (47°N, 20°W). **Deep-Sea Research**, 38(3), 347-355, 1991.

WHITE, D.C.; BOBBIE, R. J.; KING, J. D.; NICKELS, J. & AMOE, P. Lipid Analysis of Sediments for Microbial Biomass and Community Structure. In : **Methodology for biomass determination and microbial activities in sediments**. Litchfield, C.D. & Seyfried, P. L. American Society for testing and Materials, p.87-103, 1979.