



*Laboratório de Química  
Ambiental e Geoquímica*



**UFSC - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CFM - CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
QMC - DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES LIPÍDICOS EM  
AMOSTRAS DE SEDIMENTOS NO MANGUEZAL DO  
ITACORUBI,  
ILHA DE SANTA CATARINA.**

CESAR ALEXANDRO DA SILVA

Florianópolis-SC  
2006



*Laboratório de Química  
Ambiental e Geoquímica*



**UFSC - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CFM - CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
QMC - DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES LIPÍDICOS EM  
AMOSTRAS DE SEDIMENTOS NO MANGUEZAL DO  
ITACORUBI,  
ILHA DE SANTA CATARINA.**

Dissertação submetida à Universidade Federal de Santa  
Catarina para obtenção do grau de Mestre em Química

CESAR ALEXANDRO DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. LUIZ AUGUSTO DOS SANTOS MADUREIRA

Florianópolis-SC  
2006

**CESAR ALEXANDRO DA SILVA**

**IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES LIPÍDICOS EM  
AMOSTRAS DE SEDIMENTOS NO MANGUEZAL DO  
ITACORUBI, ILHA DE SANTA CATARINA.**

Esta dissertação julgada e aprovada para obtenção do título de Mestre em Química Analítica no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 15 de fevereiro de 2006.

---

Prof. Dr. Ademir Neves

(Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Química)

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Luiz Augusto S. Madureira  
Orientador

---

Prof. Dr. Valfredo T. Fávere  
(Depto de Química - UFSC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosilene Linhares Dutra  
(Depto de Farmácia - UFSC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Iolanda da Cruz Vieira  
(Depto de Química - UFSC)

***Dedico este trabalho à minha mãe e à  
Toda minha família,  
por serem o alicerce de todo meu conhecimento.***

“Alquimistas e químicos fizeram o passado, prepararam o presente e constroem o futuro.”

José Atílio Vanin

“Pedras no caminho? Guardo todas, um dia construirei um castelo.”

Fernando Pessoa.

## AGRADECIMENTOS

- ❖ À minha mãe por ser peça chave na execução deste trabalho. Pelo encorajamento, pela compreensão de minha ausência e por toda atenção naqueles momentos em que pensei em desistir.
- ❖ À minha família cuja saudade foi ferramenta impulsora para enfrentar toda e qualquer adversidade.
- ❖ Ao estimável Prof. Madureira, por ter me orientado e me colocado no mundo da Geoquímica. Pela amizade, confiança, paciência e bom humor pelo qual enfrentamos as situações mais inesperadas.
- ❖ À minha amada namorada Janaína, pelo carinho, conhecimento, paciência e dedicação dispensados no decorrer desta difícil jornada ao meu lado.
- ❖ Aos amigos Rafael, Fábio e Péricles por estarem ao meu lado desde a minha entrada na vida acadêmica e por serem muito importantes em toda a minha estadia quando era apenas mais um estranho nesta Ilha.
- ❖ Aos amigos do Lab. 214 e 216: Eduardo, Luciano, Izoldir, Andréa, Cristiane, Thaís, Carlos, Karen, Carla, Adriana.
- ❖ À Central de Análises, amigos como Renato, Robson, Fábio, Jucélia, Fabi que sempre estiveram dispostos em me ajudar.
- ❖ Ao Prof. Dr. Eduardo Juan Soriano do NEMAR/CCB – Núcleo de Estudos do Mar do Centro de Ciências Biológicas da UFSC pela contribuição na identificação das espécies vegetais do manguezal do Itacorubi.
- ❖ Ao Prof. Dr. Faruk por possibilitar a utilização do CG-EM. Ao Jacks por toda atenção dispensada na utilização deste.
- ❖ Ao Prof. Henrique Lisboa e seu doutorando Waldir da Engenharia Ambiental pela utilização do CG-EM.
- ❖ Ao Prof. Luiz Vinatea e Msc. Mauricio Lehman pelo fornecimento de material para a realização deste trabalho.

- ❖ À amiga Ivanize pela ajuda em análises realizadas.
- ❖ À amiga e Prof<sup>a</sup>. Dra. Ieda Spacino Scarminio (UEL) e ao Prof. Dr. Roy E. Bruns (UNICAMP) pelo auxílio nas análises estatísticas.
- ❖ À CAPES pelo apoio financeiro.
- ❖ A todos os funcionários do Depto. de Química, em especial aos amigos Jadir e Graça.

## SUMÁRIO

	<i>pág.</i>
<i>LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES.....</i>	<i>i</i>
<i>LISTA DE FIGURAS.....</i>	<i>ii</i>
<i>LISTA DE TABELAS.....</i>	<i>v</i>
<i>RESUMO.....</i>	<i>vii</i>
<i>ABSTRACT.....</i>	<i>viii</i>
<b>1 REVISO BIBLIOGRFICA.....</b>	<b>01</b>
1.1 <i>Geoquímica orgnica de sistemas aquáticos.....</i>	<i>01</i>
1.2 <i>Reservas de carbono.....</i>	<i>03</i>
1.3 <i>Tipos de influxo  matria orgnica sedimentar.....</i>	<i>04</i>
1.4 <i>Diagnese.....</i>	<i>07</i>
1.5 <i>Biomarcadores geoquímicos.....</i>	<i>08</i>
1.5.1 <i>Hidrocarbonetos.....</i>	<i>10</i>
1.5.2 <i>Terpenides e esteris.....</i>	<i>13</i>
1.5.3 <i>cidos graxos.....</i>	<i>17</i>
1.6 <i>Ecosystema: manguezal.....</i>	<i>19</i>
1.7 <i>Quimiometria.....</i>	<i>21</i>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
2.1 <i>Objetivos gerais.....</i>	<i>23</i>
2.2 <i>Objetivos específicos.....</i>	<i>23</i>
<b>3 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>24</b>
<b>4 ÁREA DE ESTUDO.....</b>	<b>25</b>
<b>5 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>27</b>

<b>5.1 Reagentes e solventes.....</b>	<b>27</b>
<b>5.2 Limpeza da vidraria.....</b>	<b>27</b>
<b>5.3 Adsorvente.....</b>	<b>28</b>
<b>5.4 Confeção de microcoluna cromatográfica.....</b>	<b>28</b>
<b>5.5 Equipamentos.....</b>	<b>28</b>
<b>5.6 Amostragem e coleta de amostras.....</b>	<b>29</b>
<b>5.6.1 Preparo das amostras.....</b>	<b>30</b>
<b>5.6.2 Extração, separação e identificação da fração lipídica.....</b>	<b>31</b>
<b>5.6.3 Parâmetros cromatográficos.....</b>	<b>34</b>
<b>5.7 Granulometria.....</b>	<b>34</b>
<b>5.8 Análise elementar de C, H e N.....</b>	<b>36</b>
<b>5.9 ph e potencial redox (Eh).....</b>	<b>36</b>
<b>5.10 Análises quimiométricas.....</b>	<b>37</b>
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>6.1 Granulometria.....</b>	<b>38</b>
<b>6.2 ph e potencial redox.....</b>	<b>40</b>
<b>6.3 Composição elementar.....</b>	<b>43</b>
<b>6.3.1 Teor de carbono orgânico e matéria orgânica extraível.....</b>	<b>43</b>
<b>6.3.2 Teor de nitrogênio, razões C/N e H/C.....</b>	<b>44</b>
<b>6.4 Biomarcadores geoquímicos.....</b>	<b>46</b>
<b>6.4.1 Hidrocarbonetos alifáticos.....</b>	<b>46</b>
<b>6.4.2 Ácidos carboxílicos.....</b>	<b>51</b>
<b>6.4.3 Terpenóides e esteróis.....</b>	<b>58</b>
<b>6.5 Análise quimiométrica multivariada.....</b>	<b>65</b>



<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>71</b>
<b>8 BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>73</b>

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIÇÕES**

<b>ÁC.</b>	- Ácidos
<b>AVIC</b>	- <i>Avicennia schaueriana</i> Stapf & Leechm
<b>BSTFA</b>	- Bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida
<b>CG</b>	- Cromatografia Gasosa
<b>CG-EM</b>	- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa
<b>CO</b>	- Carbono Orgânico
<b>DCM</b>	- Diclorometano
<b>E1, E2,...</b>	- Extrato 1, 2,...
<b>Eh</b>	- Potencial redox
<b>Gt</b>	- Gigatons
<b>HCA</b>	- Análise Hierárquica de Agrupamentos
<b>HIDROC.</b>	- Hidrocarbonetos
<b>HPA</b>	- Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
<b>LAG</b>	- <i>Laguncularia racemosa</i> (L) Gaert
<b>MeOH</b>	- Metanol
<b>MO</b>	- MO
<b>MOE</b>	- MO Extraída
<b>P1, P2,...</b>	- Ponto 1, 2,...
<b>P1E1, P2E1</b>	- Extrato 1 do ponto 1, extrato 2 do ponto 1...
<b>PCA</b>	- Análise de Componentes Principais
<b>IPC</b>	- Índice Preferencial de Carbono
<b>RHIZ</b>	- <i>Rhizophora mangle</i> L.
<b>SPAR</b>	- <i>Spartina alterniflora</i> Loisel
<b>RTA</b>	- Razão Terrestre Aquática
<b>UCM</b>	- Mistura Complexa não Resolvida

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> – Estrutura química da clorofila e seus derivados em sedimentos.....	<b>01</b>
<b>Figura 2</b> – Sumário do ciclo do carbono: principais reservatórios e fluxos anuais de carbono.....	<b>03</b>
<b>Figura 3</b> – Principais fontes de contribuição de constituintes orgânicos de sedimentos.....	<b>06</b>
<b>Figura 4</b> – Relação evolucionária de organismos e seus respectivos precursores biológicos, divididos em três reinos fundamentais.....	<b>09</b>
<b>Figura 5</b> – Rota diagenética do fitol a pristano e fitano.....	<b>11</b>
<b>Figura 6</b> – Exemplo de rota de síntese de hopanos a partir do bacteriohopanotetrol.....	<b>14</b>
<b>Figura 7</b> – Biossíntese de esteróis a partir do esqualeno.....	<b>15</b>
<b>Figura 8</b> – Transformações do colesterol: (I) colesterol; (II) colestanona; (III) 5 $\beta$ -coprostanona; (IV) coprostanol ; (V) 5 $\alpha$ -coprostanona, (VI) colestanol.....	<b>16</b>
<b>Figura 9</b> – Biossíntese de ácidos graxos saturados em plantas e animais. O palmitato é formado por sucessivas adições de malonil coenzima A na cadeia enzimática com a perda de uma molécula de CO <sub>2</sub> em cada adição, resultando na adição de CH <sub>2</sub> a cada passo. Detalhes da formação do butiril (C <sub>4</sub> ) a partir do acetil (C <sub>2</sub> ) é demonstrada, enquanto que a adição subsequente de seis metilenos a partir do malonil forma o palmitato.....	<b>18</b>
<b>Figura 10</b> – Manguezal do Itacorubi: os pontos 1 e 2 são locais devastados, onde já não existe vegetação; 3) aterro sanitário e 4) ponto de coleta de amostras de sedimentos.....	<b>25</b>
<b>Figura 11</b> – Espécies de mangue predominantes no manguezal do Itacorubi: (A) <i>Spartina alterniflora</i> Loisel, (B) <i>Laguncularia racemosa</i> (L.) Gaert; (C) <i>Rhizophora mangle</i> L, (D) <i>Avicennia schaueriana</i> Stapf & Leechm.....	<b>26</b>

---

<b>Figura 12</b> – Coleta das amostras superficiais de sedimento.....	<b>30</b>
<b>Figura 13</b> – Rota de extração da fração lipídica de folhas e amostras de sedimento.....	<b>31</b>
<b>Figura 14</b> – Diagrama triangular de Shepard (1954) com a classificação granulométrica das amostras de sedimentos do manguezal do Itacorubi.....	<b>39</b>
<b>Figura 15</b> – Escala do potencial redox de sedimentos.....	<b>41</b>
<b>Figura 16</b> – Seqüência da redução dos elementos presentes em sedimentos.....	<b>42</b>
<b>Figura 17</b> – Sistema da raiz de uma <i>Avicennia schaueriana</i> .....	<b>43</b>
<b>Figura 18</b> – Rota de fragmentação de hidrocarbonetos alifáticos.....	<b>46</b>
<b>Figura 19</b> – Abundância relativa de hidrocarbonetos totais do extrato total (E1) de amostras de sedimentos e plantas do manguezal do Itacorubi.....	<b>48</b>
<b>Figura 20</b> – Abundância relativa de hidrocarbonetos totais do extrato total (E1) de amostras de sedimentos e plantas do manguezal do Itacorubi.....	<b>49</b>
<b>Figura 21</b> - Concentrações individuais de hidrocarbonetos ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) do extrato total (E1) de amostras de folhas de plantas do manguezal do Itacorubi.....	<b>49</b>
<b>Figura 22</b> - Fragmentograma m/z 85 referente a hidrocarbonetos da amostra P1E1.....	<b>50</b>
<b>Figura 23</b> – Picos característicos da fragmentação de ácidos carboxílicos lineares sob a forma de ésteres metílicos.....	<b>52</b>
<b>Figura 24</b> – Distribuição relativa de ácidos lineares saturados ( $\text{C}_{14}\text{-C}_{20}$ ) do extrato total (E1) das amostras de plantas e sedimentos.....	<b>55</b>
<b>Figura 25</b> – Principais fragmentações de $\alpha$ e $\omega$ -hidroxi metil ésteres, TMSi éteres.....	<b>56</b>
<b>Figura 26</b> – Estrutura sugerida da lignina.....	<b>58</b>
<b>Figura 27</b> - Fragmentos utilizados na identificação de terpenóides e esteróis.....	<b>59</b>

---

<b>Figura 28</b> – Estruturas e valores dos fragmentos chaves utilizados na identificação dos triterpenóides pentacíclicos.....	<b>61</b>
<b>Figura 29</b> – Abundância relativa dos oito triterpenos pentacíclicos monitorados no extrato total (E1) das amostras de sedimentos e folhas de plantas coletadas no manguezal do Itacorubi.....	<b>62</b>
<b>Figura 30</b> – Razão colesterol/ $\beta$ -sitosterol obtida das amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi.....	<b>64</b>
<b>Figura 31</b> - Razão colesterol/epicoprostanol obtida das amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi.....	<b>64</b>
<b>Figura 32</b> - Razão coprostanol + epicoprostanol/ esteróis totais (%) obtida das amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi.....	<b>65</b>
<b>Figura 33</b> – Dendograma com distâncias Euclidianas entre os biomarcadores identificados.....	<b>67</b>
<b>Figura 34</b> – Gráfico de <i>scores</i> de correlação entre CP <sub>1</sub> x CP <sub>2</sub> .....	<b>67</b>
<b>Figura 35</b> - Gráfico de <i>loadings</i> de correlação entre CP <sub>1</sub> x CP <sub>2</sub> .....	<b>68</b>
<b>Figura 36</b> – Histograma de similaridade entre as amostras.....	<b>70</b>

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 01</b> – Reagentes e solventes utilizados neste estudo.....	<b>27</b>
<b>Tabela 02</b> – Critérios de coleta de alíquotas para análise granulométrica de sedimentos.....	<b>36</b>
<b>Tabela 03</b> – Valores médios em porcentagem de areia, silte e argila de sedimentos do manguezal do Itacorubi <sup>a</sup> .....	<b>40</b>
<b>Tabela 04</b> – Parâmetros físico-químicos das amostras de sedimentos obtidas em diferentes profundidades de inserção do eletrodo.....	<b>40</b>
<b>Tabela 05</b> – Dados obtidos do teor de carbono orgânico (% CO), em porcentagem de sedimento analisado e MO extraída (MOE), em mg g <sup>-1</sup> de sedimento extraído para amostras do manguezal do Itacorubi.....	<b>44</b>
<b>Tabela 06</b> – Valores de carbono orgânico (CO), N, H e razões atômicas: H/C e C/N de amostras de sedimento e plantas do manguezal do Itacorubi.....	<b>45</b>
<b>Tabela 07</b> – Distribuição de hidrocarbonetos (µg g <sup>-1</sup> peso seco) do extrato total (E1) de amostras de plantas e sedimentos do manguezal do Itacorubi.....	<b>47</b>
<b>Tabela 08</b> – Índice Preferencial de Carbono (IPC) e razão pristano/fitano de amostras de sedimentos e plantas do manguezal do Itacorubi.....	<b>51</b>
<b>Tabela 09</b> – Informações sobre fontes de MO e alterações nas estruturas de ácidos monocarboxílicos encontrados em sedimentos marinhos.....	<b>52</b>
<b>Tabela 10</b> – Distribuição de ácidos monocarboxílicos do extrato total (E1) de amostras de sedimento e folhas.....	<b>54</b>
<b>Tabela 11</b> – Informações sobre fontes de MO e alterações diagenéticas de hidroxiácidos monocarboxílicos em sedimentos marinhos.....	<b>56</b>
<b>Tabela 12</b> – Abundância relativa individual (%) de α- e ω- OH ácidos obtidos via tratamentos seqüenciais em amostras de sedimentos e folhas.....	<b>57</b>
<b>Tabela 13</b> - Distribuição dos triterpenóides pentacíclicos identificados no extrato total (E1) das amostras de sedimento e plantas.....	<b>60</b>
<b>Tabela 14</b> – Concentração individual de esteróis identificados no extrato total (E1) de amostras de plantas e sedimentos no manguezal do Itacorubi.....	<b>63</b>
<b>Tabela 15</b> – Compostos utilizados na análise quimiométrica multivariada e as	

---

respectivas alturas dos sinais cromatográficos.....	<b>66</b>
<b>Tabela 16</b> - % de significância das componentes principais.....	<b>66</b>

## RESUMO

As áreas de manguezais são importantes ecossistemas que desenvolvem funções vitais em termos de aporte de nutrientes para a vida marinha e como área de reprodução e abrigo para diversas espécies. São áreas que apresentam um grande acúmulo de matéria orgânica, sendo as folhas das espécies vegetais existentes neste ambiente consideradas como principal contribuinte para a sedimentação e uma importante fonte de carbono para organismos heterotróficos. Neste estudo análises qualitativas e semi-quantitativas foram realizadas a fim de identificar biomarcadores lipídicos em diferentes frações (livres, "OH lábeis" e "H lábeis") que foram extraídos de amostras de sedimentos e folhas de plantas do manguezal do Itacorubi, Ilha de Santa Catarina. A realização do estudo geoquímico da MO sedimentar em concomitância com a avaliação lipídica das folhas de mangue nos forneceu conhecimento para a distinção entre as possíveis fontes naturais (biogênicas) e/ou antropogênicas, responsáveis pela contaminação do meio. A interpretação dos resultados foi feita através do Índice Preferencial de Carbono (IPC) e composição elementar (C, H, N) que revelaram a contribuição mista de aporte terrestre e aquático. Os baixos valores de potencial redox (Eh) encontrados nas amostras de sedimento, entre - 250 mV a - 444 mV, são característicos de ambiente redutor, induzido pela ação da comunidade microbiana do ambiente. O uso de razões a partir das concentrações dos esteróis C<sub>27</sub> e C<sub>29</sub>, tais como colesterol/ $\beta$ -sitosterol, coprostanol/epicoprostanol, coprostanol + epicoprostanol/esteróis totais evidenciaram a contaminação do manguezal por esgoto doméstico. Entre as amostras de plantas o taraxerol foi encontrado apenas em *Rhizophora mangle*, sendo portanto um biomarcador para esta espécie de mangue. Da mesma forma friedelina, germanicol e betulina foram eleitos marcadores químicos para MO derivada da *Avicennia schaueriana*. Foram utilizados também métodos estatísticos de análises multivariadas (PCA e HCA) que apresentaram uma melhor correlação entre a composição lipídica das folhas das plantas e a composição extraída do sedimento.



## ABSTRACT

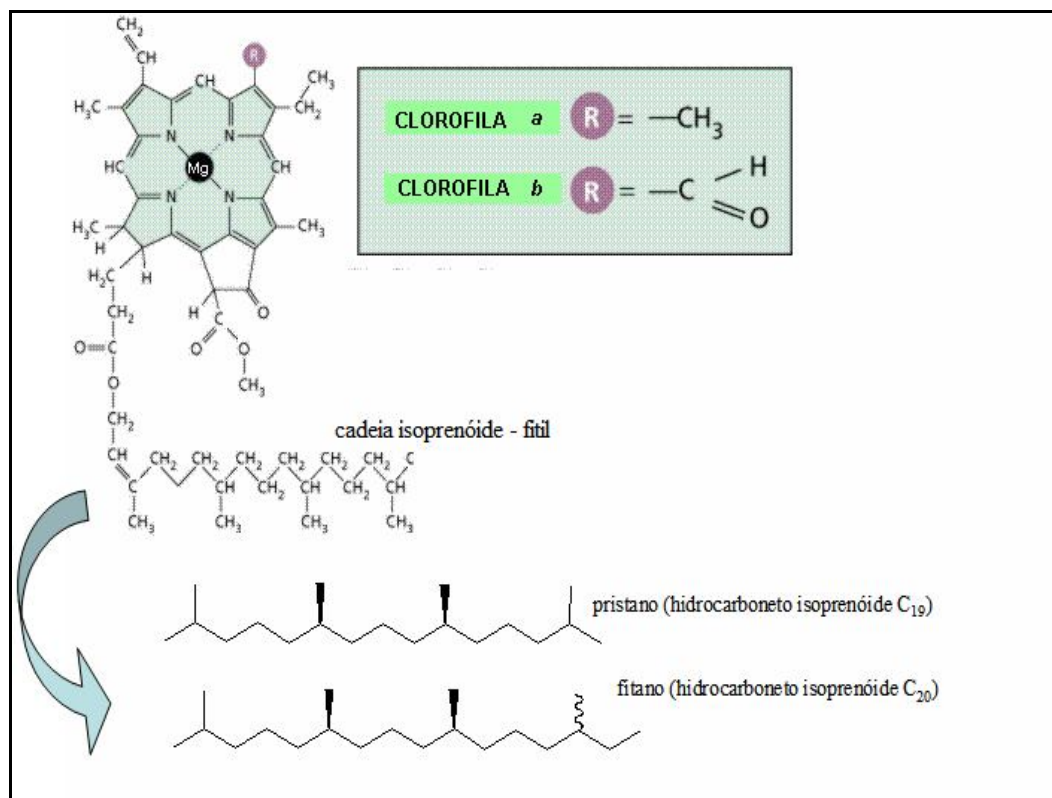
Mangrove ecosystems play a special role as nutrient sources for the sea life and also can be a shelter and reproduction place for several species. In these environments sediments are very rich in organic matter, mainly due to the contribution of leaves from native plant species, which are important carbon source for heterotrophic organisms. In the present study, lipid biomarkers (different organic fractions: unbound, "OH labile" and "H labile") in surface sediments and leaves of Itacorubi Mangrove, Santa Catarina Island, were qualitative and semi quantitatively analyzed. Distinction between biogenic (natural sources) and antropogenic inputs were based on the distribution of biomarkers found in the sediments and the leaves. Values of C/N ratio and IPC index showed a mixed contribution of terrestrial and aquatic origins. Low potential values (Eh), ranging from - 250 mV to - 444 mV, found in the surface sediment samples are suggestive of very reducing conditions, possibly due to sewage discharges and the action of local microbial community. The use of sterol ratios such as cholesterol/ $\beta$ -sitosterol, coprostanol/epicoprostanol, total epicoprostanol + coprostanol/sterols agreed with the Eh values, and are indicative of sewage contamination. For the leave samples taraxerol was only found in *Rhizophora mangle*, and can be considered a specific biomarker for this mangrove species. On the other hand, friedelin, germanicol and betulin were elected as chemical markers for organic material derived from the *Avicennia schaueriana*. These results were used in statistical methods of multivaried analyses (PCA and HCA), showing good correlation between the lipidic fraction of the plants and those found in the sediments.

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Geoquímica orgânica de sistemas aquáticos

O desenvolvimento de um estudo sistemático da composição orgânica na crosta terrestres (geoquímica orgânica) é fato relativamente recente e tem experimentado grande aceleração nas últimas décadas em consequência do notável desenvolvimento de novas técnicas analíticas instrumentais que vem permitir a caracterização, em micro-quantidades, de misturas orgânicas complexas. Historicamente, os primeiros resultados foram a caracterização de porfirinas fósseis, evidenciando que complexas estruturas orgânicas poderiam sobreviver milhões de anos incorporadas a rochas e sedimentos (Cardoso & Gabardo, 1981).

Assim, a identificação de pristano e fitano (originários do fitol, presente esterificado na estrutura da clorofila) em diversos xistos e estomatólitos do Pré-Cambriano, foi interpretada como evidência da atividade fotossintética há pelo menos  $3 \times 10^9$  anos (Calvin, 1969) (Figura 1).



**Fig. 1** – Estrutura química da clorofila e seus derivados em sedimentos.

Portanto, a geoquímica orgânica trata de todos os compostos orgânicos encontrados na geosfera. Estes compostos são essencialmente de origem biológica, podendo ser incorporados em rochas sedimentares e preservados por eras geológicas. O tempo de residência destes compostos na coluna sedimentar é longo quando comparado ao tempo de vida de organismos, mas pode ser curto quando comparado à duração de ciclos geológicos. Após a deposição, os lipídios podem ter a estrutura modificada e retornar à superfície terrestre para participar novamente de reações biossintéticas (Killops & Killops, 1993).

A quantidade e a qualidade da matéria orgânica (MO) incorporada a sedimentos dependem do teor do oxigênio presente no sedimento e na lâmina de água sobrenadante (Tissot & Welte, 1984).

Em condições óxicas, biolipídios lábeis (esteróis, carotenóides, clorinas) são rapidamente destruídos ou sofrem substanciais alterações estruturais. Em situações anóxicas ocorre uma maior preservação desta estruturas, por ser a degradação anaeróbia menos eficiente do que a decomposição da MO por via aeróbia, gerando sedimentos com uma composição orgânica mais estreitamente relacionada à biomassa original (Eglinton & Murphy, 1969).

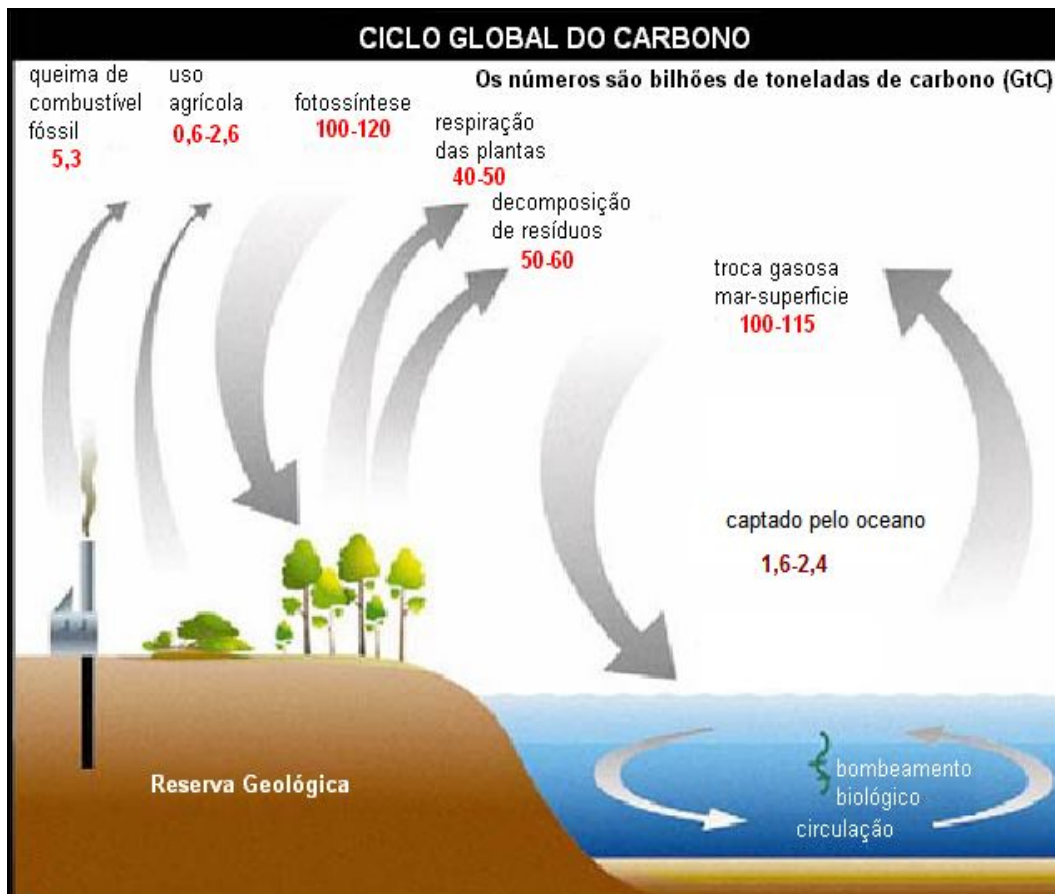
A instalação de condições anóxicas em ambientes aquáticos é, por sua vez, conseqüência de uma alta taxa de sedimentação e produtividade planctônica, bem como de uma circulação deficiente das camadas de água mais profundas. Assim, a sedimentação de grandes quantidades de material orgânico oxidável ocasionará um grande consumo de oxigênio dissolvido gerando condições anóxicas (Killops & Killops, 1993).

Ambientes estuarinos como manguezais, por exemplo, são importantes fontes de suprimento de nutrientes e se faz necessário, portanto, o conhecimento deste ecossistema, bem como sua preservação. Como estes ecossistemas são bastante complexos, intervindo parâmetros físicos, biogeoquímicos e climáticos, todo conhecimento referente à composição orgânica e às condições de sedimentação torna-se imprescindível para avaliação do meio quanto à impactação destes por derivados de petróleo e efluentes domésticos.

## 1.2 Reservas de carbono

A química dos compostos orgânicos é baseada no carbono apesar deste representar apenas cerca de 0,08% da litosfera, hidrosfera e atmosfera combinados e ser o décimo segundo elemento mais abundante da crosta terrestre (Killops & Killops, 1993).

Um ponto de partida para todo e qualquer estudo de compostos orgânicos é o ciclo do carbono, o qual nada mais é do que o mecanismo básico para a produção e renovação de fontes de carbono considerando processos físicos, químicos, biológicos e geológicos que podem ocorrer em dias, semanas ou até mesmo milhões de anos (Figura 2). Sedimentos marinhos estão diretamente ligados ao ciclo do carbono desde o surgimento de plantas na terra, há cerca de 0,3 bilhões de anos atrás (Berner, 1992 e 1997).



**Fig. 2** – Sumário do ciclo do carbono: principais reservatórios e fluxos anuais de carbono. Fonte: <http://www.esd.ornl.gov/iab/iab2-2.htm>

Em estudos realizados por Kasting (1998), a atmosfera continha aproximadamente 750 Gt do carbono na forma de CO<sub>2</sub>. A vegetação terrestre continha aproximadamente 610 Gt C, armazenados na maior parte como celulose. Os solos retêm duas a três vezes mais na forma de MO morta, ou de húmus. O principal reservatório de carbono são os oceanos que continham aproximadamente 38.000 Gt - sendo a maior parte desta quantidade na forma de bicarbonato dissolvido. Os combustíveis fósseis mantêm uma importante reserva de carbono, estando na ordem de 5000 Gt.

Observa-se, portanto, que todos os processos envolvidos no ciclo do carbono podem ocorrer através de mecanismos naturais e/ou pela exploração do homem, sendo este último o fator responsável pelo acelerado e contínuo acúmulo de MO. Sendo a MO o menor componente dos solos, sedimentos e coluna d'água, a extensão na qual influencia os vários processos geoquímicos destes sistemas naturais é desproporcional ao seu verdadeiro peso, já que uma pequena fração é preservada na forma de fósseis geoquímicos.

### **1.3 Tipos de influxos à matéria orgânica sedimentar**

A complexidade da composição lipídica em sedimentos aquáticos reflete a diversidade do aporte de material biogênico e a variedade de modificações químicas e microbiológicas que os lipídios sofrem no ambiente sedimentar (Brooks *et al.*, 1976).

A MO é primeiramente sintetizada por organismos vivos e após isto é depositada nos sedimentos. A fotossíntese é a base da produção primária de MO, a qual ocorre através da captura de CO<sub>2</sub> atmosférico e energia luminosa para a conversão desta em carboidratos (glicose) e energia química necessários para o crescimento de plantas (Bresciani, 1998).

Em ambientes marinhos a fotossíntese ocorre através de fitoplâncton, o qual produz MO em proporção comparável a plantas terrestres (Hedges, 1992). A maioria dos fitoplâncton é ingerida por zooplâncton, outro grande contribuinte para MO sedimentar.

Uma grande proporção de fluxo de energia em ecossistemas pode passar através da cadeia alimentar de detritos, nos quais bactérias heterotróficas são participantes proeminentes. Bactérias heterotróficas são

importantes em todos os sistemas sedimentares, e embora consumam detritos orgânicos, elas enriquecem o ambiente com seus próprios detritos (Killops & Killops, 1993). Embora a biomassa bacteriana seja relativamente pequena, sua produtividade pode ser equivalente a cerca de metade dos valores correspondentes à produção primária de fitoplâncton (Bordovskiy, 1965).

A acumulação física de partículas nas diversas bacias de sedimentação resulta, em grande parte, de um processo de erosão das regiões marginais.

Evidentemente, a existência de um capeamento vegetal contribui com detritos orgânicos que são transportados e acumulados no sedimento em formação sendo essa MO depositada rica em informações quanto ao tipo de vegetação e, conseqüentemente, ao clima destas regiões em épocas passadas (Simoneit, 1977).

O aporte de plantas é outro importante contribuinte da produção primária de MO sedimentar, estando divididas em dois grupos geoquimicamente significantes com base na composição bioquímica:

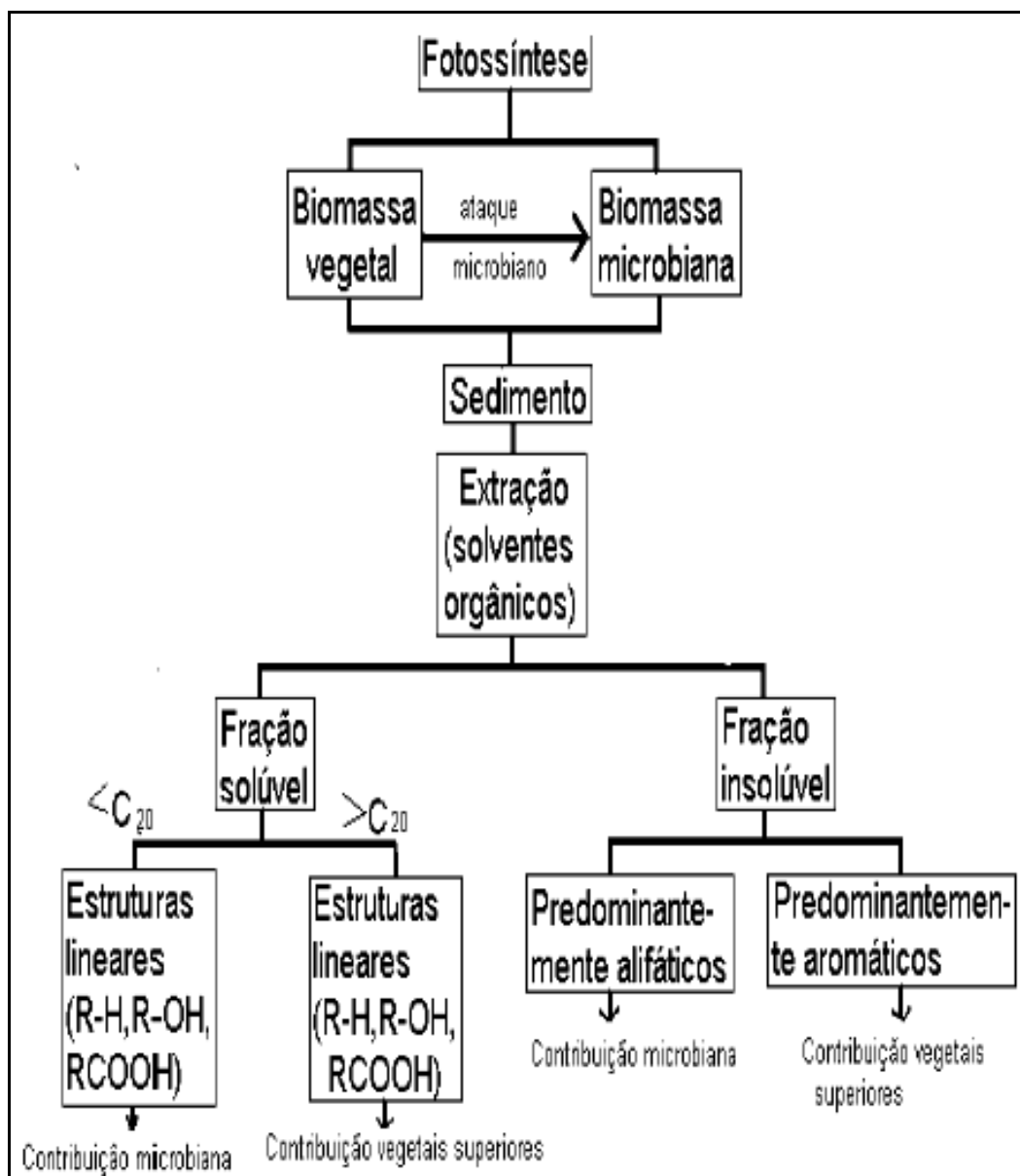
- a) plantas não vasculares, sem tecido lenhoso e celulose, como as algas, por exemplo;
- b) plantas vasculares, que têm tecidos, como gramíneas, arbustos e árvores. Este tipo de vegetação existe na terra e em partes alagadas como vegetação emergente.

A contribuição de animais para a composição de sedimentos é em geral desprezível, exceção feita a ambientes próximos a grandes concentrações urbanas, onde o lançamento de efluentes de esgoto pode contribuir com grandes quantidades de MO de origem animal.

Existe, portanto, quatro principais fontes de MO sedimentar. São elas em ordem de importância: fitoplâncton, bactérias, plantas superiores e zooplâncton. Podemos considerar ainda a existência do reino fungi, mas a sua importância é mais visível em ambientes terrestres, pois em ambientes aquáticos a degradação é feita principalmente por bactérias (Killops & Killops, 1993).

A caracterização química dos tipos de influxo a sedimentos é possível em virtude das diferenças na composição e distribuição de estruturas orgânicas. Tomando a distribuição de lipídios conforme a Figura 3 tem-se, por exemplo, a ocorrência de compostos com cadeias lineares ( $> C_{20}$ ) dos tipos

alcanos, álcoois, cetonas e ácidos carboxílicos nas partes aéreas de plantas vascularizadas. Enquanto que algas e bactérias se caracterizam pela ocorrência de homólogos com cadeias predominantemente de menores extensões ( $< C_{20}$ ) (Eglinton & Hamilton, 1967).



**Fig. 3** – Principais fontes de contribuição e natureza dos constituintes orgânicos presentes em sedimentos (Cardoso & Gabardo, 1981).

## 1.4 Diagênese

A MO de organismos mortos é remineralizada quantitativamente para dióxido de carbono em ambientes aquáticos. Entretanto, uma fração pequena da biomassa total, em média menos de 0,1%, escapa da remineralização e se acumula eventualmente nos sedimentos (Holser *et al.*, 1988). Como compostos com rápidas taxas de retorno biológico, incluindo carboidratos, proteínas e ácidos nucléicos, são mais propensos à reciclagem, moléculas mais resistentes como lipídios e biopolímeros estruturais recalcitrantes ficam concentrados no meio (Tegelaar *et al.*, 1989). Durante o transporte através da coluna d'água, e subseqüentemente no sedimento não consolidado, esta MO é alterada por uma variedade de processos químicos e biológicos denominados de diagênese (Hedges e Keil, 1995; Hedges *et al.*, 1997; Rullkötter, 1999). Durante a diagênese uma fração dos lipídios e outros componentes de baixa massa molar reagem via reações de condensação e vulcanização do enxofre (Sandison *et al.*, 2002) e se combinam com as macromoléculas resistentes à degradação para formar o querogênio (De Leeuw & Largeau, 1993; Derenne *et al.*, 1991). Formalmente, o querogênio é definido como a fração de grandes agregados químicos na MO sedimentar que é insolúvel em solventes. Em contraste, a fração da MO que pode ser extraída dos sedimentos com solventes orgânicos tais como o diclorometano e metanol, é definida como o betume.

O betume em sedimentos recentes é composto predominantemente de lipídios funcionalizados. Durante a diagênese, estes lipídios são submetidos à reações de oxidação, redução, sulfurização, desulfurização, e de rearranjo, gerando uma disposição de produtos em parte ou inteiramente desfuncionalizados que podem ter diferentes estéreo-isômeros estruturais. A análise destes produtos de alteração rende freqüentemente informações valiosas sobre as condições químicas que prevalecem no sedimento durante e após a sua deposição (Killops & Killops, 1993).

A extensão e a velocidade relativa das reações diagenéticas são dependentes das condições ambientais tais como o potencial redox do meio, o pH e a disponibilidade de sítios catalíticos em superfícies minerais. Em sedimentos em que as condições redutoras prevalecem, biolipídios eventualmente perdem todos os grupos funcionais, mas permanecem

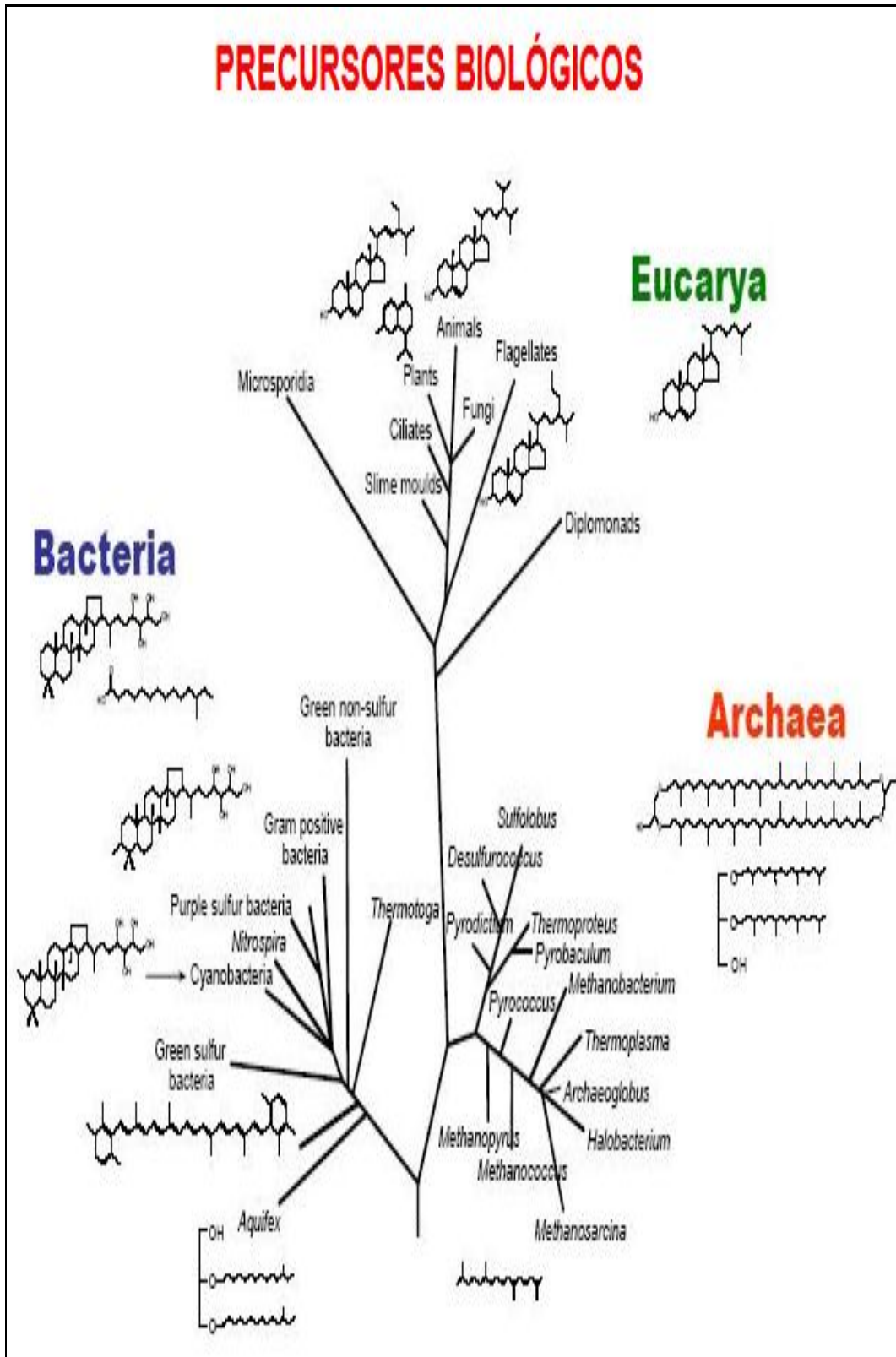


identificáveis pelos esqueletos hidrocarbônicos geologicamente estáveis. As reações de diagênese na presença da espécie reduzida do enxofre têm um profundo efeito no destino sedimentar dos lipídios e de outros restos biológicos (Sinninghe Damsté & De Leeuw, 1990). O seqüestro e a liberação subsequente destes esqueletos preservados após a deposição sedimentar fornecem um dos mecanismos mais importantes para a preservação da integridade estrutural de biomarcadores específicos para organismo.

### **1.5 Biomarcadores geoquímicos**

Posteriormente ao processo de deposição no sedimento alguns compostos orgânicos existem como constituintes inalterados de suas fontes biogênicas. Dependendo da especificidade destes compostos, é possível obter informações dos tipos de organismos que contribuíram para a MO sedimentar e estimar suas contribuições relativas (Killops & Killops, 1993). Esta fração lipídica, que tem a característica de se manter preservada após o processo diagenético e sua estrutura química ligada intrinsecamente a um precursor biológico, contém os compostos denominados de biomarcadores ou fósseis geoquímicos. A distribuição desses biomarcadores vem sendo utilizada na geoquímica paleo-ambiental como traçadores da origem da MO sedimentar em ambientes estuarinos (Grimalt & Olive, 1993).

Em sedimentos recentes a distribuição de biomarcadores torna possível a distinção entre as contribuições dos principais grupos de organismos (bactérias, fitoplâncton e plantas vasculares), sendo possível ainda a distinção entre níveis e subdivisões taxonômicas (Figura 4).



**Fig. 4** – Relação evolucionária de organismos e seus respectivos precursores biológicos, divididos em três reinos fundamentais.

### 1.5.1 Hidrocarbonetos

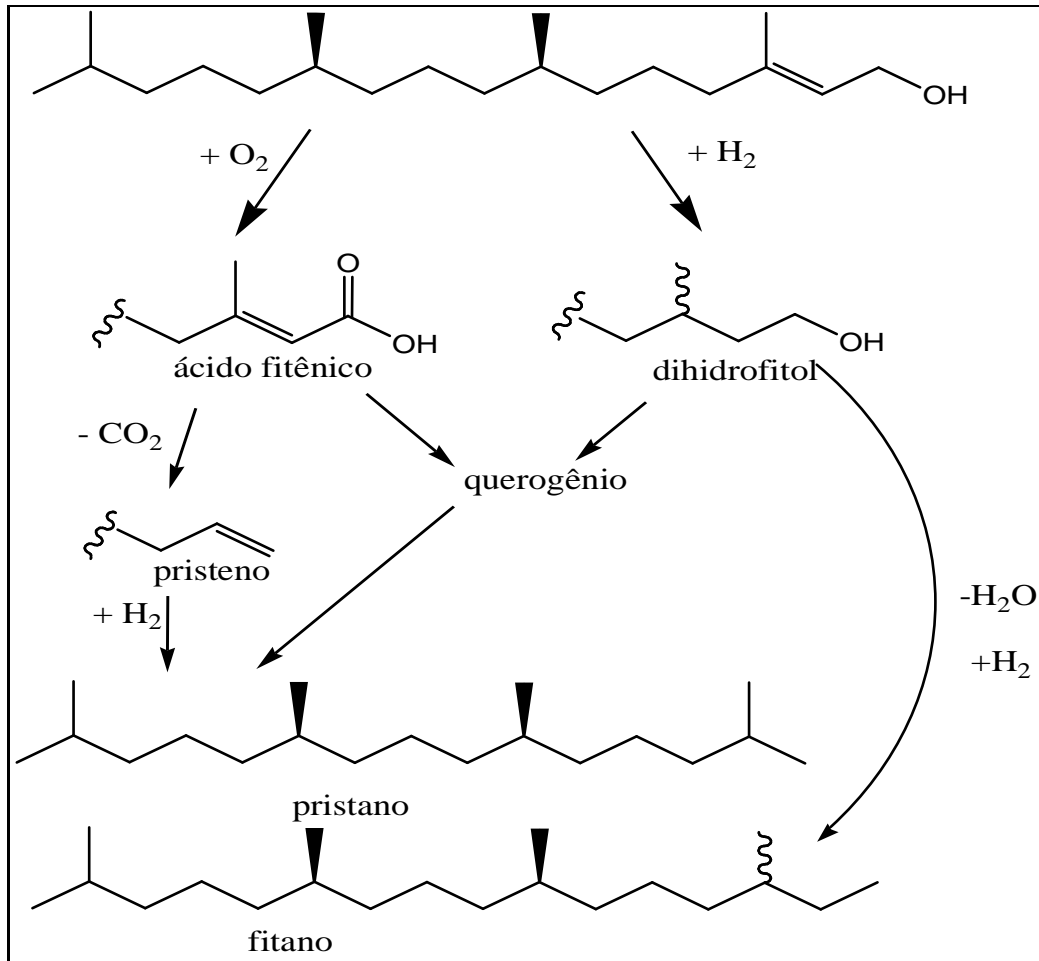
Os hidrocarbonetos são compostos químicos presentes na constituição da MO vegetal, animal e na composição do petróleo. A estabilidade química e a resistência destes compostos quanto a processos diagenéticos são características que possibilitam a utilização desta classe de compostos como biomarcadores, uma vez que apresentam uma estrutura molecular estável de modo a sofrer pouca ou nenhuma alteração ao longo do tempo de sua permanência na MO sedimentar (Philp, 1985). Associados principalmente à introdução antrópica de petróleo e seus derivados e à combustão destes produtos, hidrocarbonetos como os alcanos lineares, alcanos isoprenóides e os policíclicos aromáticos (HPA) têm sido exaustivamente utilizados em estudos abrangendo as mais diversas regiões do globo (Volkman *et al.*, 1992).

Os hidrocarbonetos alifáticos saturados e de cadeias abertas não ramificadas, podem ser sintetizados por organismos terrestres, como plantas superiores e bactérias, ou por seres marinhos como fitoplâncton e zooplâncton, predominando a síntese de alcanos lineares com cadeias ímpares de carbono. Em relação ao número de carbonos da cadeia linear e a massa molar, temos que os organismos marinhos sintetizam alcanos lineares de cadeias e massas molares menores do que os organismos terrestres (Volkman *et al.*, 1980). Plantas superiores contêm *n*-alcanos com número ímpar de carbonos variando de C<sub>23</sub> a C<sub>33</sub>, referente a ceras epicuticulares das folhas, sendo que ocorre a predominância de C<sub>27</sub>, C<sub>29</sub> e C<sub>31</sub> (Killops & Killops, 1993).

Alcanos isoprenóides são formados através de unidades repetidas de C<sub>5</sub> (isopreno) presentes em sedimentos antigos e no petróleo. As formas mais comuns nestes ambientes são C<sub>19</sub> e C<sub>20</sub>, pristano e fitano respectivamente, regularmente utilizados em estudos sobre a origem de hidrocarbonetos no meio marinho, principalmente na forma da razão entre a concentração destes (Bícego *et al.*, 1996). Conforme ilustrado na Figura 5 estes são produzidos a partir da degradação do fitol (C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O), constituinte da clorofila - a, sendo sua formação associada às condições oxidantes (pristano) e/ou redutoras (fitano).

Razões pristano/fitano superiores a 1,00 são indicativos de ambientes não contaminados por combustíveis fósseis. Entretanto valores abaixo disso não são determinantes para revelar a impactação do meio por estes

contaminantes. A utilização de outros parâmetros como concentração de *n*-alcanos totais se faz necessária para inferir a origem destes hidrocarbonetos (Steinhauer & Boehm, 1992).



**Fig. 5** – Rota diagenética do fitol a pristano e fitano.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são compostos químicos que apresentam em sua estrutura pelo menos dois anéis aromáticos, sendo o naftaleno o composto mais simples deste grupo. Os anéis aromáticos podem estar ou não substituídos por cadeias alifáticas. Os HPAs podem ser sintetizados por alguns tipos de bactérias, plantas ou fungos, entretanto sua principal origem são fontes antropogênicas, resultantes da combustão parcial e pirólise de combustíveis fósseis (contribuição pirolítica), derrame acidental de petróleo

(contribuição petrolítica) e o descarte de efluentes domésticos e industriais (Law & Biscaya, 1994).

O Índice Preferencial de Carbono (IPC) (Equação 1), obtido com base nas abundâncias de *n*-alcanos ímpares e pares, é utilizado para estimar a presença de compostos terrestres em sedimentos e foi introduzido há mais de 40 anos (Bray & Evans, 1961). Este índice é expresso por:

$$IPC_{HC} = \frac{2(\sum \text{ímpares } C_{23} - C_{31})}{\left[ \sum (\text{pares } C_{22} - C_{30}) + \sum (\text{pares } C_{24} - C_{34}) \right]} \quad (\text{Eq. 1})$$

*onde: C pode ser a concentração do referido composto ou a integração de sua área fornecida pelo cromatograma ou fragmentograma característico.*

Valores de IPC variando entre 4 e 7 refletem uma presença predominante de *n*-alcanos biogênicos, cuja origem, continental ou marinha, pode ser inferida a partir do número de carbonos do conjunto de *n*-alcanos considerados no cálculo. No caso de ceras epicuticulares de plantas superiores o IPC pode assumir valores acima de 4, em contraste com os valores provenientes de origem marinha, como bactérias e algas, cujo índice apresenta valores em torno de 1 e 1,5. Valores menores de 1,0 indicam contaminação petrogênica.

Outro índice utilizado para a averiguação da fonte de hidrocarbonetos é o RTA (razão entre o material terrestre e aquático) conforme (Bourbonniere & Meyers & Ishiwatari, 1996):

$$RTA_{HC} = \frac{(C_{27} + C_{29} + C_{31})}{(C_{15} + C_{17} + C_{19})} \quad (\text{Eq. 2})$$

Através das concentrações dos hidrocarbonetos  $C_{27}$ ,  $C_{29}$  e  $C_{31}$ , principais componentes das ceras de plantas superiores e das concentrações de  $C_{15}$ ,  $C_{17}$  e  $C_{19}$ , indicadores da contribuição de algas, este índice fornece informações que podem diferenciar o aporte da MO sedimentar.

Valores maiores que 1 são referentes ao aporte terrestre e valores inferiores a 1 aporte aquático, demonstrando o ambiente sedimentar ser muito antigo.

Uma característica importante de contaminação por combustíveis fósseis pode ser vista através de análise cromatográfica na qual aparece a UCM (Unresolved Complex Mixture), ou seja, mistura complexa não resolvida de hidrocarbonetos que pode ser proveniente de petróleo e derivados (Killops & Killops, 1993).

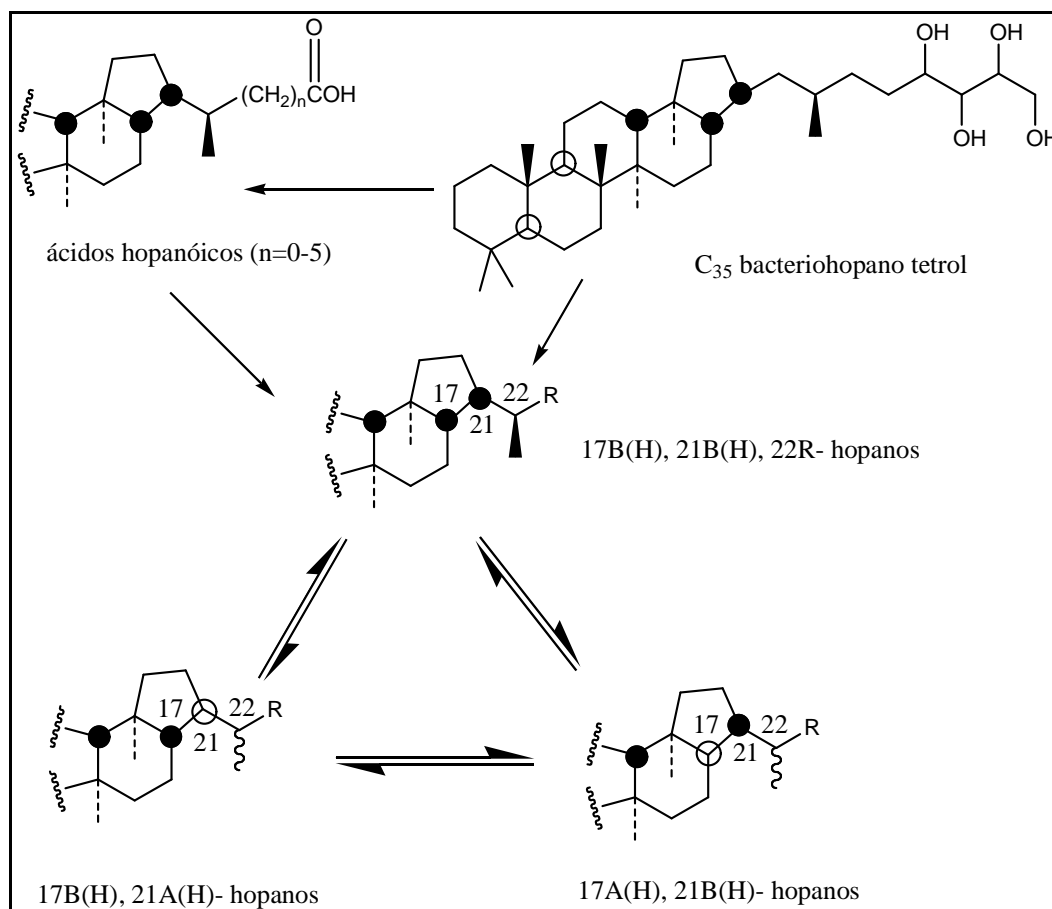
### 1.5.2 Terpenóides e esteróis.

Os terpenóides são uma classe de compostos que contem uma grande diversidade de estruturas e funções, variando de feromônios sexuais voláteis a borrachas naturais. São biossintetizados a partir de unidades de acetato derivadas da produção primária do metabolismo de ácidos graxos, carboidratos e alguns aminoácidos. Todos apresentam unidades de C<sub>5</sub>, isopreno, característica fundamental dessa classe. Através da quantidade destas unidades temos diferentes classes de terpenóides: duas unidades (monoterpenóides); três (sesquiterpenóides); quatro (diterpenóides); cinco (sesterpenóides); seis (triterpenóides); oito (tetraterpenóides); e os politerpenóides que contêm um número superior a oito unidades isoprenóides (Killops & Killops, 1993). Dentre os terpenos, os hopanóides e os triterpenos pentacíclicos merecem atenção na avaliação geoquímica de qualquer ambiente.

Os hopanóides são considerados os produtos naturais mais abundantes na Terra e sua avaliação fornece informações quanto a maturação do sedimento (Ourisson & Albrecht, 1992). São encontrados num grupo de bactérias, todas aeróbias, com cadeias que geralmente variam de C<sub>29</sub> a C<sub>35</sub>.

A redução de ácidos hopanóicos e polióis produz hopanos com a configuração 17β (H), 21β (H) (Figura 6). Em sedimentos pouco transformados, a estereoquímica (17βH, 21βH) prevalece, contudo através de alterações térmicas no sedimento e esta pode ser convertida a 17αH, 21αH, por ter uma maior estabilidade termodinâmica (Ensminger *et al.*, 1977). Estas transformações estereoquímicas dão a correlação entre a distribuição de

estereoisômeros e o grau de maturação da MO sedimentar, uma vez que estas alterações são provenientes de processos geotérmicos e/ou catalíticos.

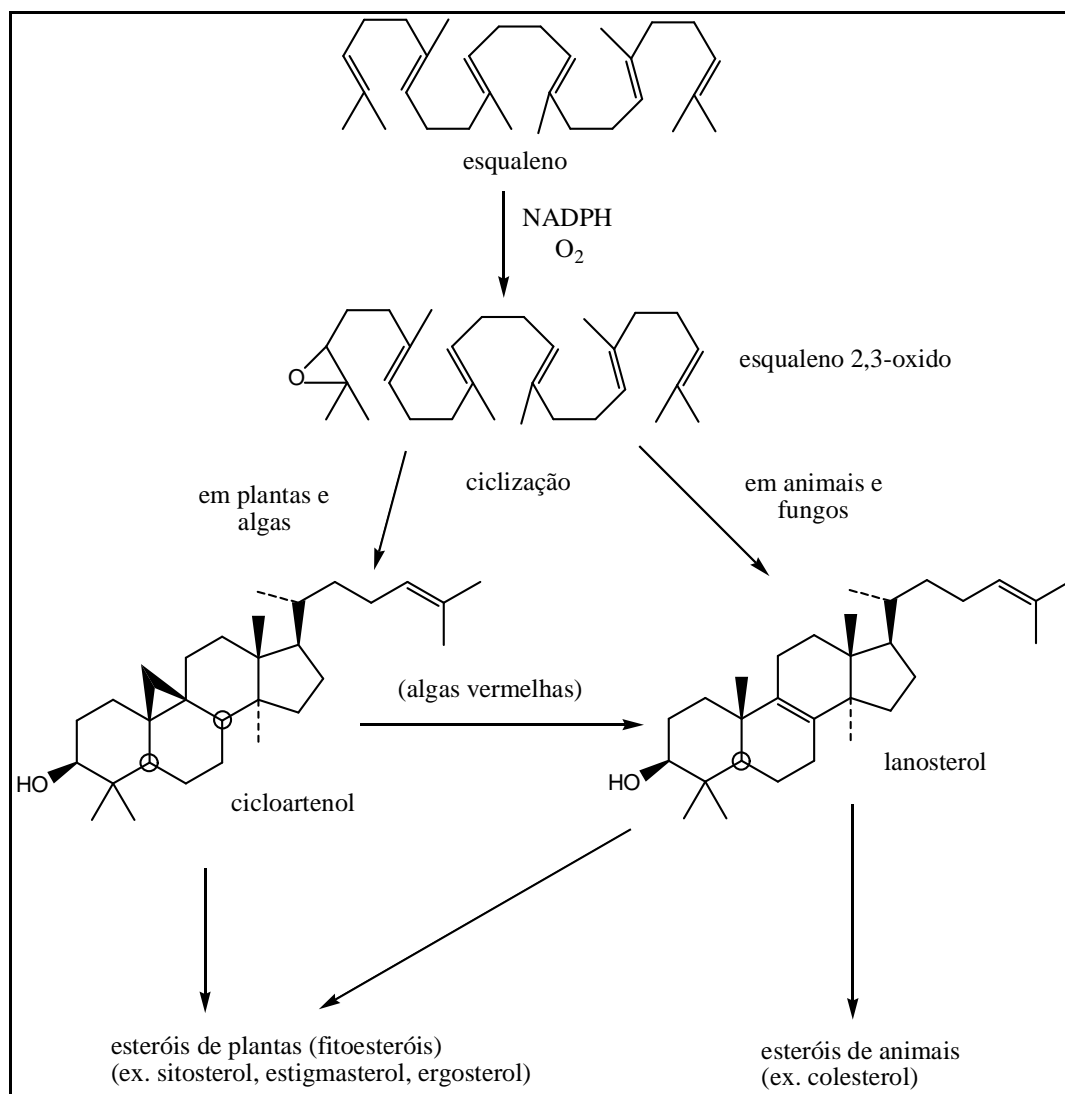


**Fig. 6** – Exemplo de rota de síntese de hopanos a partir do bacteriohopanotetrol.

Outros triterpenóides pentacíclicos são encontrados em plantas superiores, principalmente como constituintes de resinas. As três principais séries destes são: os oleananos (ex.  $\beta$ -amirina), ursanos ( $\alpha$ -amirina) e lupanos (lupeol).

Os esteróis, que são formados através da oxidação enzimática do esqualeno conforme pode ser observado na Figura 7, estão presentes na membrana celular de todos os organismos eucarióticos e também são de grande importância como marcadores geoquímicos. São substâncias que apresentam anel alifático cujo esqueleto carbônico é composto por 17 a 29 átomos de carbono, podendo apresentar substituintes metílicos especialmente

nas posições 10 e 13. A resistência à degradação anaeróbia possibilita o acúmulo de esteróis em sedimentos, o que viabiliza sua determinação.

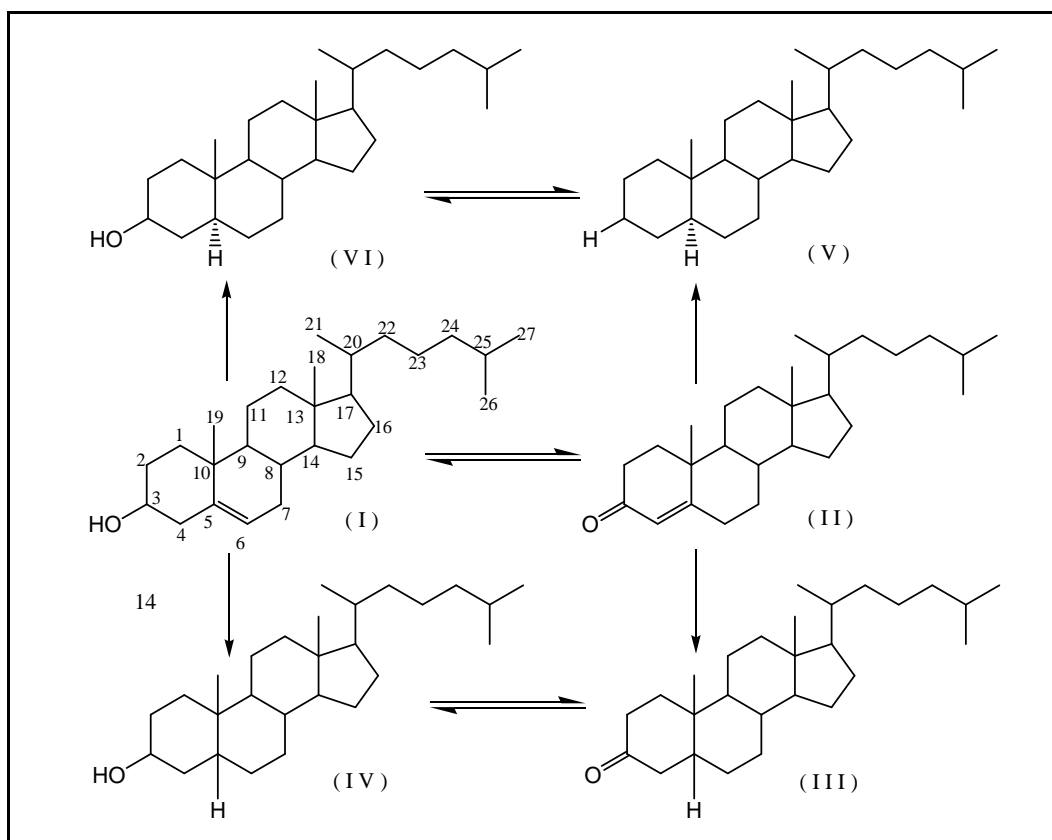


**Fig. 7** – Biossíntese de esteróis a partir do esqualeno (Killops & Killops, 1993).

O processo de obtenção de esteróis a partir do esqualeno produz o cicloartenol, precursor da maioria dos esteróis de plantas (fitoesteróis como o  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol) e o lanosterol, precursor dos esteróis de origem animal e fúngica. Ainda sob o processo de oxidação enzimática e descarboxilação, o lanosterol pode ser convertido a colesterol (C<sub>27</sub>), que aparece nos animais superiores como produto de excreção. Chegando ao intestino, o colesterol é convertido em colestanol e coprostanol (maior



quantidade), através de uma redução microbiana que promove a hidrogenação direta do colesterol conforme pode ser visto na Figura 8 (Grimalt *et al*, 1990).



**Fig. 8** – Transformações do colesterol: (I) colesterol; (II) colestano; (III) 5β-coprostanona; (IV) coprostanol; (V) 5α-coprostanona, (VI) colestanol (Grimalt *et al.*, 1990).

Embora sejam substâncias freqüentemente encontradas na natureza, proveniente de plantas e organismos, de um modo geral a presença de derivados do colesterol, em particular o coprostanol, têm sido investigada como indicadora de contaminação por esgoto urbano.

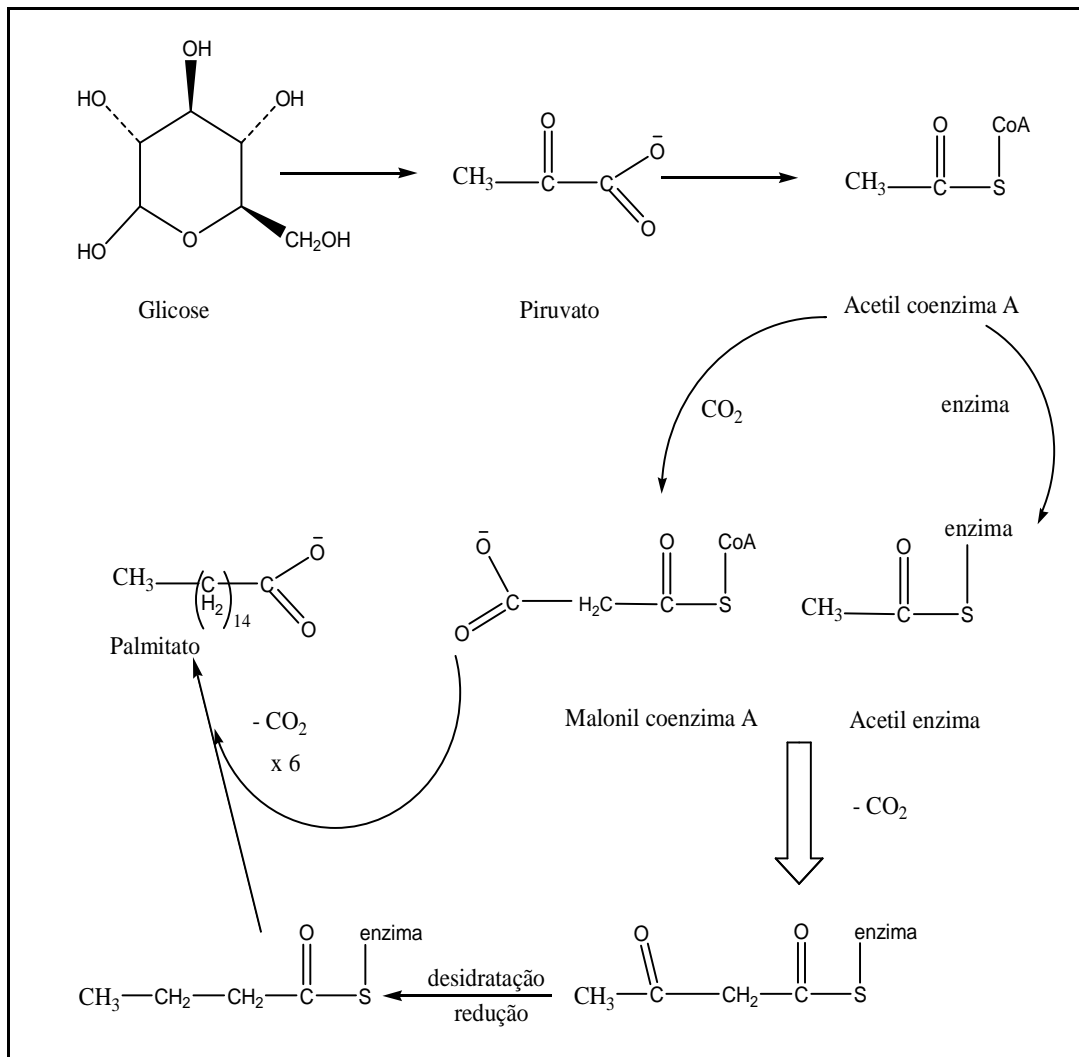
Venkatesan & Santiago (1989) propuseram a razão entre as concentrações de coprostanol e epicoprostanol, como forma de diferenciar a contribuição de esteróis fecais de origem humana da contribuição de esteróis de origem natural. O uso desses esteróis como indicadores de poluição fecal é particularmente aplicável a regiões próximas a grandes centros populacionais e industriais onde é possível a presença de fontes de descarga de efluentes domésticos.

### 1.5.3 Ácidos graxos

Os ácidos graxos, que são os maiores constituintes de todos os seres vivos, podem permanecer intactos em ambientes anóxicos a baixa temperatura por longos períodos geológicos de tempo. Em termos de estabilidade, os ácidos saturados são mais estáveis em ambientes sedimentares do que ácidos graxos insaturados. São comumente encontrados com estruturas variando de  $C_{12}$  a  $C_{36}$ , sendo os saturados em animais e os insaturados e polinsaturados freqüentemente em plantas. Os ácidos graxos provenientes de algas podem ser encontrados até o  $C_{20}$  (em menores proporções até o  $C_{28}$ ; Matsuda, 1978; Volkman *et al.*, 1998); enquanto os ácidos com cadeias longas (acima de  $C_{20}$ ) são provenientes de ceras de vegetais superiores (Cranwell, 1974).

São constituídos predominantemente por número par de carbonos por serem formados através de unidades condensadas de acetil ( $C_2$ ), as quais são derivadas da glicose em presença de várias enzimas, co-enzimas e proteínas transportadoras (Figura 9).

Os ácidos graxos hidroxilados podem ser encontrados na natureza nas formas saturadas e insaturadas, com cadeias hidrocarbônicas normais ou ramificadas (Bronz, 2002). As possíveis posições do agrupamento hidroxila são  $\alpha$  ou  $C_2$ ,  $\beta$  ou  $C_3$ ,  $\omega$  ou carbono terminal da cadeia (oposto ao agrupamento carboxila) e  $\omega-1$ , penúltimo carbono da cadeia. Os ácidos  $\beta$ -hidroxilados são relacionados a bactérias e microalgas (Goossens *et al.*, 1986).



**Fig. 9** – Biossíntese de ácidos graxos saturados em plantas e animais. O palmitato é formado por sucessivas adições de malonil coenzima A na cadeia enzimática com a perda de uma molécula de  $\text{CO}_2$  em cada adição, resultando na adição de  $\text{CH}_2$  a cada passo. Detalhes da formação do butiril ( $\text{C}_4$ ) a partir do acetil ( $\text{C}_2$ ) é demonstrada, enquanto que a adição subsequente de seis metilenos a partir do malonil forma o palmitato (Killops & Killops, 1993).

A presença de uma série de ácidos graxos mono-ramificados: iso e anteiso, com cadeias médias de  $\text{C}_{12}$  a  $\text{C}_{19}$ , e predominância de ímpares sobre pares, denota o aporte de marcadores provenientes de bactérias, incluindo, em geral, as espécies Gram-positivas e as sulfato redutoras entre as Gram-negativas (Garcette-Lepecq *et al.*, 2004).

A distribuição dos ácidos graxos saturados de cadeias lineares pode ser estudada a partir de índices como  $\text{IPC}_{\text{AC}}$  e  $\text{RTA}_{\text{AC}}$  conforme as equações 3 e 4:

$$IPC_{AC} = \frac{2(\sum \text{pares } C_{22} - C_{30})}{\sum (\text{ímpares } C_{21} - C_{29}) + \sum (\text{ímpares } C_{23} - C_{31})} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$RTA_{AC} = \frac{(C_{26} + C_{28} + C_{30})}{(C_{14} + C_{16} + C_{18})} \quad (\text{Eq. 4})$$

No  $IPC_{AC}$  são consideradas as razões das concentrações de cadeias pares de ácidos sobre ímpares. Já no  $RTA_{AC}$  são consideradas as concentrações dos ácidos  $C_{26}$ ,  $C_{28}$  e  $C_{30}$  para fazer a distinção entre origem terrestre (plantas superiores) e aquática (fitoplâncton) onde são avaliadas as concentrações dos ácidos  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  e  $C_{18}$ . De maneira que  $RTA > 1$  indica a predominância de MO terrestre e valores  $< 1$  indicam a predominância de MO aquática (Bourbonniere & Meyers, 1996).

## 1.6 Ecossistema: manguezal

O ecossistema manguezal desenvolve-se em zonas litorâneas associadas a cursos d'água, em áreas encharcadas, salobras e calmas, com influência das marés, porém não atingidos pela ação direta das ondas. Torna-se elo de ligações entre os ambientes marinho, terrestre e de água doce, caracterizando-se por uma constante conquista de novas áreas devido ao acúmulo de grandes massas de sedimentos e detritos trazidos pelos rios e marés (Rossi & Matos, 1992).

As áreas de manguezal são representativas zonas de elevada produtividade biológica uma vez que, pela natureza de seus componentes, são encontrados nesse ecossistema representantes de todos os elos da cadeia alimentar. Esse tipo de ambiente é tão produtor e fixador de energia quanto alguns estuários ou uma terra bem cultivada (Odum, 1977). Os manguezais desempenham papel essencial na manutenção da biodiversidade marinha como berçários e fontes de alimentos para peixes e outros animais (Shriadah, 1998).

Os manguezais ocupam aproximadamente três quartos das áreas costeiras localizadas entre 25° N e 25° S, totalizando uma área

aproximadamente igual a 170.000 km<sup>2</sup>, onde se encontram cerca de 60 espécies endêmicas de árvores e arbustos (Kuenzler, 1974). No Brasil a área geográfica ocupada por mangues é estimada em aproximadamente 20.000 km<sup>2</sup>, desde o Cabo Orange no Amapá até o município de Laguna em Santa Catarina, todavia esta estimativa pode estar reduzida devido aos constantes desmatamentos sofridos nos mangues (Kjerfve & Lacerda, 1993). Na costa de Santa Catarina, de 25°57'26" S até 29°20'32" S, são 175 km de manguezais, abrangendo 20 % da costa litorânea catarinense (Sierra de Ledo & Soriano - Sierra, 1988).

A vegetação dos manguezais é altamente especializada e representada por espécies como *Rhizophora mangle* (Rhiz), *Laguncularia racemosa* (Lag), *Avicennia Schaueriana* (Avic), *Spartina alterniflora* (Spar), entre outras, altamente adaptadas a condições de solos alagados, com baixas concentrações de oxigênio e salinidade variável.

Estas espécies apresentam estruturas de adaptação ao mangue, tais como raízes escora (responsáveis pela sustentação das árvores sobre o sedimento) e pneumatóforos (raízes que se projetam pra fora do solo lodoso para captura de oxigênio) (Odum, 1972).

Segundo um estudo da UNEP (Programa Ambiental das Nações Unidas) realizado em 1991, cerca de 65% das grandes cidades do mundo estão localizadas em zonas costeiras, significando 3,6 bilhões de pessoas vivendo a 100 km da costa. Nestas cidades são geradas grandes quantidades de compostos químicos que são descarregados diretamente no ambiente com pouco ou nenhum controle de tratamento. Assim os aterros e depósitos de lixo figuram como uma das principais fontes de micro-poluentes orgânicos, de metais pesados e de excesso de nutrientes em zonas costeiras urbanizadas, principalmente em áreas alagadas como manguezais (Lacerda, 1998). Estima-se que milhares de hectares de manguezais são perdidos anualmente no mundo todo em função de impactos ambientais naturais (ex. erosão) e antrópicos causados pela expansão urbana e especulação imobiliária (UNEP, 1991).

## 1.7 Quimiometria

A quimiometria é uma área que se refere à aplicação de métodos estatísticos e matemáticos, assim como aqueles baseados em lógica matemática, a problemas de origem química.

As análises quantitativas que eram realizadas na maioria das vezes por “via úmida” como titulação, precipitação e reações específicas, que são demoradas e muitas vezes pouco precisas, estão cada vez mais sendo substituídas por técnicas instrumentais como: Ressonância Magnética Nuclear, Espectroscopia no Infravermelho, Espectroscopia no visível/ultravioleta, Espectroscopia de Massa, Cromatografia, Polarografia, Análise por Injeção em Fluxo, etc., que aliam a velocidade de análise com uma boa qualidade de resultados. Nessas técnicas instrumentais não é obtida uma informação direta do resultado, mas sim uma grande quantidade de sinais (curvas, picos) que podem ser tratados para uma possível quantificação das várias espécies presentes.

Muita ênfase tem sido dada aos sistemas multivariados, nos quais se pode medir muitas variáveis simultaneamente, ao se analisar uma amostra qualquer. Nesses sistemas, a conversão da resposta instrumental no dado químico de interesse, requer a utilização de técnicas de estatística multivariada, álgebra matricial e análise numérica. Essas técnicas se constituem no momento na melhor alternativa para a interpretação de dados e para a aquisição do máximo de informação sobre o sistema.

Os métodos multivariados consideram a correlação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente, permitindo a extração de quantidade maior de informação que dificilmente seria gerada empregando métodos univariados (Dutra, 2005).

A análise de componentes principais (PCA) é um método de análise multivariada utilizado para projetar dados n-dimensionais em um espaço de baixa dimensão. Isso é realizado através do cálculo de componentes principais obtidas fazendo-se combinações lineares das variáveis originais. Este tipo de análise é capaz de separar a informação importante da redundante e aleatória (Dutra, 2005). A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) é um processo hierárquico no qual, em cada passo, a matriz de dados é diminuída em uma

---

dimensão, pela reunião de pares semelhantes, até a reunião de todos os pontos em um único grupo. O objetivo da HCA é exibir os dados bidimensionais de maneira a enfatizar os seus agrupamentos e padrões naturais. A distância entre os pontos, sendo amostras ou variáveis, reflete a similaridade de suas propriedades; portanto, quanto mais próximos estiverem os pontos no espaço amostral, mais similares eles são (Dutra, 2005).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

- ✓ Análise qualitativa e semi-quantitativa do extrato orgânico de amostras de sedimentos superficiais (até 10 cm de profundidade) e das folhas das espécies predominantes do manguezal do Itacorubi;
- ✓ Avaliação do aporte de material orgânico de origem terrestre, aquático e possíveis contaminantes presentes em amostras de sedimento do manguezal.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar os compostos orgânicos presentes nas amostras de sedimentos do manguezal do Itacorubi;
- ✓ Avaliar a presença de biomarcadores que identifiquem o aporte da MO sedimentar;
- ✓ Avaliar a distribuição de certos lipídios procedentes de plantas superiores, bactérias, microalgas, bem como de possíveis compostos de origem antropogênica;
- ✓ Usar da quimiometria como ferramenta estatística para inferir e correlacionar a distribuição lipídica proveniente das amostras de folhas e sedimentos do manguezal do Itacorubi;
- ✓ Fornecer subsídios, através de índices, para o entendimento sobre o funcionamento desse ecossistema;
- ✓ Utilizar-se de parâmetros físico-químicos como potencial redox, pH e granulometria para avaliar as condições de preservação da MO no sedimento,
- ✓ Verificar o nível de impactação do meio com base nas análises realizadas.



### 3 JUSTIFICATIVA

No passado, a extensão dos manguezais brasileiros era muito mais ampla; atualmente diminuiu sensivelmente, devido à ocupação humana, com construção de portos, moradias, balneários e rodovias costeiras, que avançou sobre áreas de manguezais através da instalação de aterros e outras obras de terraplenagem.

A importância desses ecossistemas pode ser avaliada por seu trabalho de proteção contra ações erosivas das ondas e marés, fixação dos sedimentos finos e pela ação como filtro biológico natural. A importância social dos manguezais pode, por outro lado, ser estimada muitas vezes pela presença de comunidades pesqueiras que deles extraem alimentação e renda.

O estudo da MO desses ambientes fornece informações relacionadas à sua origem, estado de conservação e grau de impactação. Dentre os ambientes costeiros, os manguezais possuem uma enorme facilidade de influxo de compostos orgânicos, tanto de origem biogênica quanto antropogênica recebendo estes através de rios, marés, ventos, chuvas e outros. A realização de estudos relacionados à MO sedimentar destes ambientes pode servir de base para futuras comparações, como apoio para pesquisas referentes à antropogenização do meio.

A avaliação da composição lipídica das espécies de plantas do mangue é de fundamental importância na correlação desta com a MO sedimentar preservada no mangue. De acordo com a literatura, detritos derivados de plantas são os principais componentes da fração lipídica sedimentada.

#### 4 ÁREA DE ESTUDO

O Manguezal do Itacorubi (27° 34' 14" – 27° 35' 31" L.S. e 48° 30' 07" – 48° 31' 33" L.W.), encontra-se localizado na margem oeste da Ilha de Santa Catarina, adjacente à Baía Norte, na área estuarina de uma bacia de 22 km<sup>2</sup> (Dutra, 1994).

Dois cursos principais de rios contribuem para o ecossistema: Itacorubi e Sertão, com extensões de 8,1 km e 5,9 km, respectivamente. A Figura 10 tem uma vista aérea do Manguezal do Itacorubi e alguns pontos.

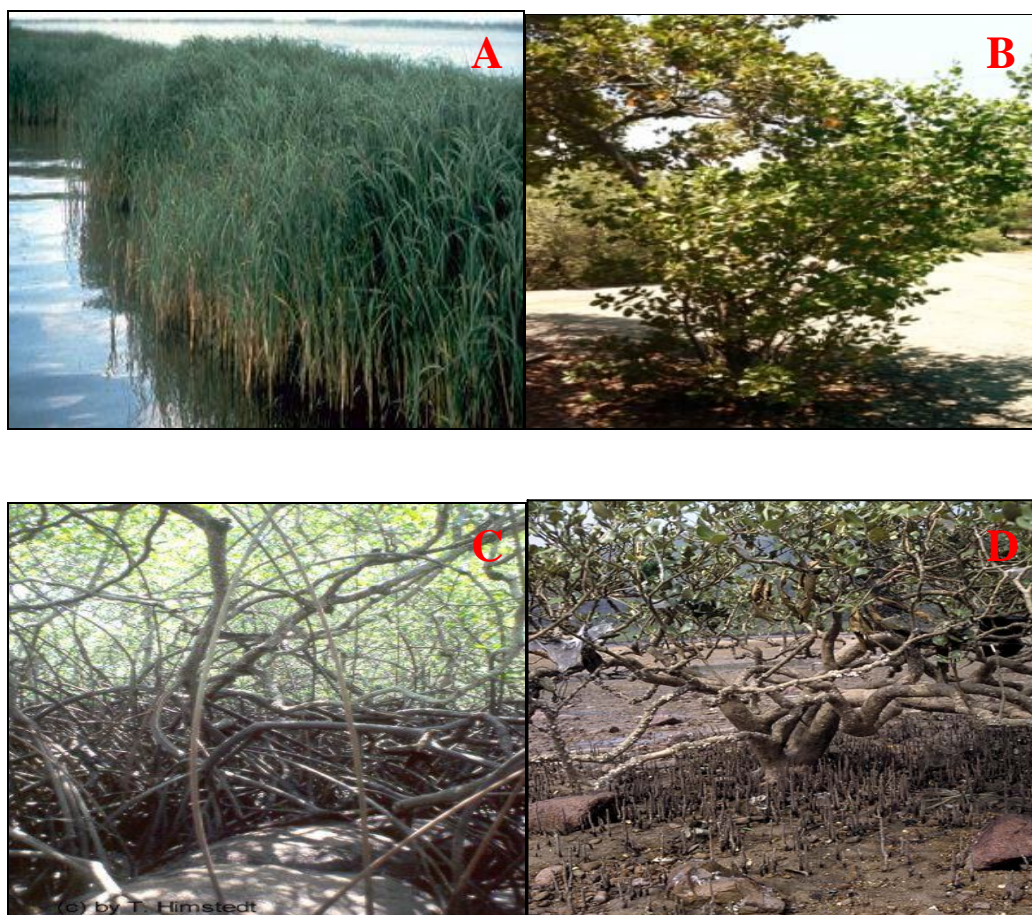


**Fig. 10** – Manguezal do Itacorubi: os pontos 1 e 2 são locais devastados, onde já não existe vegetação; 3) aterro sanitário e 4) ponto de coleta de amostras de sedimentos.

Três espécies de mangue estão presentes nas comunidades vegetais *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm; *Laguncularia racemosa* (L.) Gaert e *Rhizophora mangle* L., além de uma gramínea marisma: *Spartina alterniflora* Loisel (Figura 11). Estas espécies ocorrem sobre aproximadamente 1,42 km<sup>2</sup> de manguezal. Dentre os indivíduos adultos, *Avicennia schaueriana* é a espécie dominante (Soriano-Serra *et al.* 1998).

Em função das necessidades de expansão da cidade de Florianópolis, o sistema vem sendo objeto de uma antropogenização violenta e conseqüente processo de poluição orgânica e química (Lago, 1997).

Este ecossistema foi utilizado desde 1978 como aterro sanitário, recebendo uma carga diária de 250 toneladas de lixo doméstico, efluentes industriais, hospitalares, laboratoriais e ainda de águas residuais de postos de abastecimento de combustíveis (Soriano-Sierra *et al.*, 1998).



**Fig. 11** – Espécies de mangue predominantes no manguezal do Itacorubi: (A) marisma: *Spartina alterniflora* Loisel, (B) *Laguncularia racemosa* (L.) Gaert; (C) *Rhizophora mangle* L, (D) *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm.

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Reagentes e solventes

Os reagentes utilizados (Tabela 01) foram todos de grau analítico e ou grau HPLC para uso em cromatografia gasosa. A água utilizada nos experimentos foi destilada e deionizada sendo mantida em frasco contendo diclorometano (DCM) para a retirada de qualquer composto orgânico presente na mesma e que pudesse interferir nas análises.

**TAB. 01** – REAGENTES E SOLVENTES UTILIZADOS NESTE ESTUDO

<b>Solventes e reagentes</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Pureza</b>
Acetato de etila	MERCK (Alemanha)	HPLC
Ácido clorídrico	NUCLEAR (Brasil)	P.A. 37%
Algodão de vidro	Synth (Brasil)	P.A.
BSTFA	SUPELCO (EUA)	P.A. ≥ 99%
Cloreto de acetila	Fluka Chemika (Suíça)	P.A. ≥ 99%
Cloreto de potássio	VETEC (Brasil)	P.A.
Detergente Extran	MERCK (Brasil)	
Diclorometano	M-Tedia (EUA)	HPLC
Hidróxido de potássio	VETEC (Brasil)	P.A.
Metanol	Burdick & Jackson (EUA)	HPLC
Nitrogênio	WHITE MARTINS (Brasil)	Grau (ECD)
Sílica gel 60 (70-230 mesh)	MERCK (Alemanha)	P.A.
Sulfato de sódio anidro	NUCLEAR (Brasil)	P.A.
Tolueno	M-Tedia (EUA)	HPLC

### 5.2 Limpeza da vidraria

Toda a vidraria utilizada nos experimentos foi lavada com detergente neutro e enxaguada em abundância com água comum e destilada. Em seguida toda vidraria (exceto vidraria volumétrica) foi imersa em uma solução  $\text{HNO}_3$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$  enxaguada com água desionizada e novamente imersa em uma

solução hidroalcoólica de hidróxido de potássio 10% (m/v). Lavou-se com água desionizada em abundância e logo após o material foi colocado em contato com detergente Extran (5%) por um dia. Depois o material foi novamente lavado com água, água destilada e então seco em mufla por 450 °C para calcinação de qualquer resíduo orgânico. Após o resfriamento acondicionou-se a vidraria em local próprio e o manuseio desta se fez somente com o uso de luvas.

### **5.3 Adsorvente**

O adsorvente utilizado, sílica gel, foi calcinado a temperatura de 450 °C em mufla e armazenado em estufa em aproximadamente 100 °C até o uso na confecção de microcolunas cromatográficas. A sílica por sua vez, antes de ser utilizada foi desativada com 5% de H<sub>2</sub>O desionizada e mantida também em estufa nas condições citadas acima.

### **5.4 Confecção de microcoluna cromatográfica**

A microcoluna (pipeta Pasteur) foi empacotada com cerca de 1 cm de sílica gel sobre lã de vidro previamente calcinada. Antes da eluição da amostra a coluna era preenchida com o eluente, evitando-se ao máximo a retenção de bolhas e adicionando-se a amostra quando o solvente estava a cerca de 1 mm acima do adsorvente.

### **5.5 Equipamentos**

- Os sedimentos foram liofilizados através do liofilizador Heto (Dinamarca) acoplado à bomba EDWARDS - E2M2 (Inglaterra);
- A calcinação das amostras e da vidraria foi realizada na mufla QUIMIS – MOD. Q.318.24 (Brasil);
- O armazenamento das amostras em estufa ocorreu em dois equipamentos: FANEM - MOD. 315SE (Brasil) e QUIMIS – MOD. Q-317B242 (Brasil);

- As amostras de sedimento foram pesadas na balança semi-analítica PRECISION PR-1000 (Brasil), já as soluções foram preparadas com auxílio da balança analítica BEL MARK – 210 (Brasil);
- Os equipamentos utilizados nas extrações foram: ultra-som UNIQUE - USC 1450 (25 kHz) (Brasil), agitador de tubos do tipo vortex PHOENIX - AP56 (Brasil), centrífuga FANEN - EXCELSA BABY II - 206R (Brasil) e rota vaporizador FISATON 802 com banho termostatizado 550D (1200W) (Brasil);
- Para a análise de carbono orgânico total e nitrogênio, utilizou-se um Analisador Elementar, CHNS - Carlo Erba – EA1110 (Itália);
- Instrumento de medição de pH e potencial redox F-1100 da YSI – Bernauer (Brasil)
- Para análise por cromatografia foi utilizado um cromatógrafo gasoso CG 17A Shimadzu acoplado a um espectrômetro de massas QP 5050A Shimadzu operado a 70 eV com varredura em modo *full scan* de m/z 40 a m/z 550.

## 5.6 Amostragem e coleta de amostras

As amostras de folhas das espécies predominantes do manguezal do Itacorubi foram coletadas na Passarela das Garças no manguezal do Itacorubi.

Quanto à amostragem destas espécies preocupou-se apenas em coletar folhas saudáveis, que não apresentassem algum estado de decomposição ou doença.

Também se verificou a necessidade de fazer coleta das folhas de vários exemplares de cada planta, aumentando assim o espaço amostral.

As folhas foram identificadas pelo prof. Eduardo Juan Soriano do NEMAR/CCB – Núcleo de Estudos do Mar do Centro de Ciências Biológicas da UFSC. Após identificação as mesmas foram separadas e acondicionadas em frascos de vidro cobertos por alumínio dentro de freezer até a etapa de secagem das amostras.

No mesmo ponto foram coletadas amostras superficiais de sedimento (0-10 cm) com um amostrador de queda livre do tipo “Van Veen” (Figura 12). As amostras foram colocadas em recipientes de vidro pré-limpos (envolvidos com papel alumínio para evitar incidência de luz solar) e transportadas em recipiente térmico (tipo isopor) até o laboratório onde foram guardados em freezer. Os critérios dos pontos de coleta foram os seguintes: 1) maior

proximidade possível das plantas escolhidas para este estudo e 2) exposição ou não do sedimento à maré (sedimento seco ou alagado) para verificar o possível efeito de lixiviação da MO sedimentada. Observando-se estes critérios realizou-se a coleta em 4 pontos diferentes, os quais serão chamados aqui por P1, P2, P3 e P4 respectivamente, sendo os pontos P1 e P4 alagados e P2 e P3 sedimentos expostos ao ar.



**Fig. 12** – Coleta das amostras superficiais de sedimento.

### 5.6.1 Preparo das amostras

As amostras de folhas foram colocadas em estufa com ar corrente sob a temperatura de 60 °C até que ficassem quebradiças. Em seguida foram trituradas e acondicionadas em frascos de vidro em um freezer até o processo de extração.

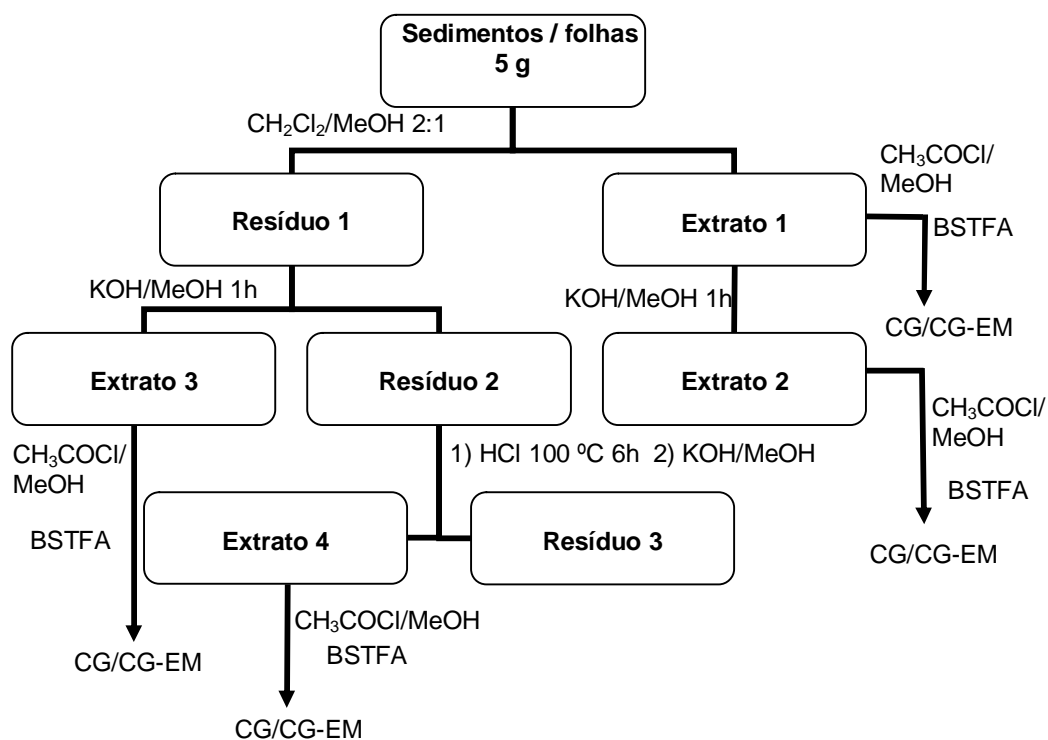
As amostras de sedimento congeladas foram liofilizadas e uma vez secas foram maceradas em almofariz de porcelana e pistilo retirando-se sujeiras como conchas, animais e raízes. O sedimento finamente dividido foi

peneirado (malha 250 mesh; 25  $\mu\text{m}$ ) retirando-se desta forma sujidades remanescentes.

### 5.6.2 Extração, separação e identificação da fração lipídica

Anteriormente ao processo de extração, as amostras de sedimento foram tratadas com cobre para a remoção de enxofre elementar, uma vez que este é um interferente nas análises cromatográficas de matrizes ambientais. Pesou-se 2,0 g de cobre em pó em tubos de ensaio e adicionou-se a estes 5 mL de ácido clorídrico concentrado. Os tubos foram agitados em vortex por alguns segundos e a mistura em seguida foi centrifugada. O sobrenadante contendo o ácido foi retirado e seguiu-se com a lavagem do cobre com metanol (MeOH), DCM:MeOH 1:1 (v/v) e DCM até a eliminação da cor amarela da solução. Desta forma o cobre fica ativado na forma de complexo seqüestrando o enxofre molecular das amostras.

Os processos de extração, separação e identificação seguintes foram baseados no procedimento desenvolvido por Goossens *et al.* (1989 a,b) e estão esquematicamente descritos na Figura 13.



**Fig. 13** – Rota de extração da fração lipídica de folhas e amostras de sedimento (Goossens *et al.*, 1989 a,b).

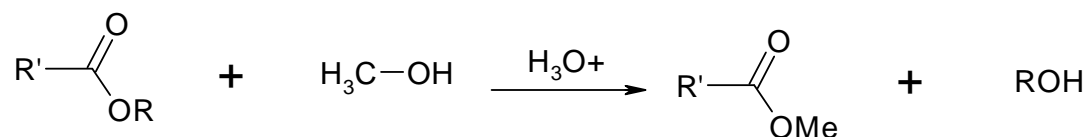


As amostras liofilizadas pesando cerca de 5 g foram distribuídas em tubos de ensaio contendo o cobre previamente tratado. Em seguida foram realizadas três extrações com DCM/MeOH 2:1 (v/v), sempre observando a relação de 2 vezes o volume de solvente em relação ao de amostra. O sistema líquido/sólido foi agitado antes das extrações em agitador tipo Vortex para melhor homogeneização.

As extrações foram realizadas em ultra-som por 30 minutos durante cada etapa. Após as extrações os tubos foram centrifugados com o intuito de separar o sobrenadante e o mesmo foi transferido para um balão, os quais foram concentrados usando-se rota vaporizador e seco com sulfato de sódio anidro. Uma alíquota de aproximadamente de  $\frac{1}{4}$  deste extrato obtido (E1) foi derivatizado através do método de esterificação/transesterificação de Fischer para converter ácidos graxos para seus correspondentes metil ésteres.

A reação de metilação de Fischer para ácidos graxos e ésteres de cadeia alcoólica superior a uma metila tem por finalidade diminuir a polaridade dos ácidos carboxílicos obtendo dessa forma um melhor sinal cromatográfico para os mesmos.

Reação:



onde: R = H (esterificação), R = C<sub>n</sub>H<sub>2n+1</sub> (transesterificação)

O procedimento da reação de metilação obedeceu a seguinte seqüência: em um balão (50 mL) adicionou-se 2 mL de cloreto de acetila sobre 20 mL de MeOH recém retirado do congelador. Uma alíquota com cerca de 2 mL do reagente foi adicionada a um tubo de ensaio contendo a amostra pré dissolvida em aproximadamente 0,5 mL de tolueno.

A solução reacional foi mantida sob atmosfera de nitrogênio em estufa (60 °C) por 12 horas. Após esta fase, adicionou-se à amostra 1 mL de DCM e 1 mL de solução 10 % KCl. A mistura então é agitada em tubo vortex e centrifugada para separação das fases orgânica e aquosa. Através de uma

pipeta Pasteur retirou-se a fase orgânica (inferior), sendo esta submetida posteriormente a uma microcoluna de vidro contendo sulfato de sódio anidro para retirada de resquícios de água. Este procedimento foi realizado por mais duas vezes para evitar perdas de material na fase aquosa. O eluato foi recolhido da microcoluna em frasco de vidro previamente calcinado e levado à secura com nitrogênio.

Subseqüentemente, compostos polares foram removidos através de uma microcoluna cromatográfica de sílica gel com acetato de etila como eluente. O eluato foi evaporado com auxílio de um leve fluxo de nitrogênio para posterior silanização.

A silanização se faz necessária pelo mesmo motivo que a metilação, entretanto o silanizante reage nas hidroxilas de álcoois, hidroxíácidos, esteróis, convertendo estes grupos funcionais em seus correspondentes trimetilsilil éteres. Após a evaporação do solvente com nitrogênio, adicionou-se 30  $\mu\text{L}$  de BSTFA (bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida) a cada amostra, mantendo a amostra sempre em atmosfera de nitrogênio, uma vez que o reagente é facilmente hidrolisável. O frasco contendo a amostra permaneceu em estufa por 1 hora sob uma temperatura de aproximadamente 60  $^{\circ}\text{C}$ . Logo após, o frasco foi resfriado em temperatura ambiente e levado à secura com nitrogênio; adicionou-se um volume apropriado de acetato de etila sendo armazenado em freezer até análise em CG e CG-EM.

Os resíduos secos (R1) e a alíquota restante do extrato não derivatizado (E1) foram saponificados com solução 1,0 mol  $\text{L}^{-1}$  de KOH em MeOH:H<sub>2</sub>O (96:4) por 1 h. Após ser resfriada à temperatura ambiente, a mistura reacional foi tratada com solução 2,0 mol  $\text{L}^{-1}$  de HCl até pH 3,5, centrifugada e transferida para um funil de separação. Os resíduos foram lavados subseqüentemente com MeOH/H<sub>2</sub>O, MeOH e DCM. Os sobrenadantes dessas lavagens também foram transferidos para o mesmo funil de separação. Adicionou-se água para uma melhor separação da camada de DCM. A camada contendo a fase aquosa (MeOH/H<sub>2</sub>O) foi lavada por mais 2 vezes com DCM. A fase orgânica (DCM) foi concentrada com o auxílio de um rota evaporador, tratada com sulfato de sódio anidro e derivatizada, conforme descrito acima, fornecendo os extratos E2 e E3 (Figura 13).

Os resíduos secos após saponificação, R2, também foram tratados com HCl 4 mol L<sup>-1</sup> (6 h; 100 °C). A mistura foi neutralizada com 4 mol L<sup>-1</sup> KOH para pH 8,5, congelada, liofilizada e saponificada conforme fluxograma. Os extratos (E4) foram lavados, separados e derivatizados conforme já descrito.

A obtenção de 4 frações ou extratos, como foram chamados, se fez necessária para obter os lipídios livres nas diversas formas em que eles se encontram preservados na matriz. A fração lipídica livre (E1) ou extrato total, são os compostos não ligados a nenhuma matriz biopolimérica. A fração “OH-lábil” (E2 e E3) não extraível com solvente orgânico e tratada com hidrólise alcalina, forneceu os lipídios ácidos ligados na forma de ésteres. O extrato E4 obtida via subsequente hidrólise ácida do material extraído e hidrolisado por base refere-se portanto, à uma fração “H-lábil” correspondendo aos ácidos via ligação amida e/ou éter.

### 5.6.3 Parâmetros cromatográficos

- Coluna capilar DB-5 (5% difenila – 95% polidimetilsiloxano) (25 m x 0,32 mm), d.i. (0,25 µm)
- Gás de arraste: He
- Temperatura do injetor: 290 °C
- Temperatura do detector: 290°C
- Programação de temperatura :

70°C (4 min) → 20 °C min<sup>-1</sup> até 130°C → 4 °C min<sup>-1</sup> até 310°C, isoterma por 15 min.

### 5.7 Granulometria

A maior parte dos sedimentos é heterogênea em relação à sua constituição granulométrica, existindo partículas argilosas até areias grosseiras. Para a separação destas frações se faz necessário a combinação de métodos e análise baseados na lei de Stokes, em que pequenas partículas decantam em água ou fluídos com velocidades constantes (Suguio, 1973).

Para a classificação textural das amostras coletadas no manguezal do Itacorubi utilizou-se o método da pipetagem sugerido por Suguio (1973). Foram pesados cerca de 10 g de amostras secas e estas submetidas a tratamento para retirada de sais.

A retirada desses sais é feita pela lavagem repetida da amostra com água destilada e papel de filtro ou decantação. A lavagem é feita até que o filtrado/decantado fique completamente isento de sais de cloro, que é testado mediante precipitação com  $\text{AgNO}_3$ .

Após a retirada dos sais, a amostra é levada novamente para secagem, desta vez em estufa a 60° C.

Obtido o peso da amostra seca e isenta de sais, procede-se a separação do material em diferentes intervalos de tamanho de grãos da seguinte forma:

a) *Método do peneiramento:*

Nas análises granulométricas sedimentológicas o limite de 1/16 mm (0,062 mm) é normalmente escolhido como diâmetro conveniente para distinguir entre técnicas para sedimentos grosseiros e finos. O método do peneiramento é utilizado para separar a amostra neste limite de tamanho de grãos. No caso específico deste trabalho, a separação do tamanho de grão é feita apenas entre areia, argila e silte, não havendo distinção entre subclasses de cada fração, assim o método do peneiramento é utilizado apenas para separar a fração areia do material.

b) *Método da pipetagem:*

Este método é baseado nas mudanças de concentração de partículas em uma suspensão originalmente uniforme pela tomada de várias amostras com uma pipeta (em intervalos definidos), em profundidade que corresponde ao material que acabara de sedimentar naquele momento.

O método de pipetagem fica restrito ao material mais fino que 1/16 mm (0,062 mm) e os tempos e profundidades especificados de decantação são usados para alíquotas de suspensão de 10 e 20 mL.

As amostras restantes do método de peneiramento foram inseridas em provetas graduadas de 1L contendo água destilada e esta suspensão agitada até que as partículas ficassem bem uniformemente distribuídas. Uma alíquota coletada através de uma pipeta volumétrica de 10 mL foi retirada nos intervalos de tempo e profundidades conforme escala de Wentworth (Tabela 02). O

processo foi realizado em triplicata e, por simples subtração dos pesos dos resíduos secos, obteve-se o peso e subseqüentemente a percentagem de cada fração granulométrica.

**TAB. 02** - CRITÉRIOS DE COLETA DE ALÍQUOTAS PARA ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DE SEDIMENTOS

<b>Diâmetro (mm)</b>	<b>Classificação</b>	<b>Profundidade (cm)</b>	<b>Intervalo tempo</b>
0,062	Areia muito fina	20	58 s
0,031	Silte grosso	10	3 min 52 s
0,016	Silte médio	10	7 min 44 s
0,008	Silte fino	10	31 min
0,004	Silte muito fino	10	2 h 3 min
0,002	Argila	10	8 h 10 min

### **5.8 Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN)**

Foram pesados aproximadamente 20 mg de cada amostra que foi inserida em pequenos frascos de vidro. Em seguida adicionou-se cerca de 0,5 mL de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> para descarbonatação e posterior secagem em estufa a 60 °C. Em seguida as amostras foram encaminhadas para o amostrador elementar na Central de Análises no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

### **5.9 pH e potencial redox (Eh)**

As medidas “in situ” de potencial redox e pH foram realizadas através do aparelho portátil Ysi F-1100. Os eletrodos foram inseridos diretamente no sedimento em profundidades de 1, 3 e 5 cm de cada amostra superficial retirada através do amostrador Van Veen. Os eletrodos foram mantidos no sedimento por alguns minutos, tempo necessário para equilíbrio e leitura dos resultados. Foram subseqüentemente limpos e lavados com água deionizada após cada medida em ordem para evitar o envenenamento dos eletrodos por íons sulfeto. Os resultados obtidos de potencial redox (Eh) foram gerados em

mV sem a necessidade da correção dos valores para eletrodos de referência (usualmente +202 mV para eletrodo AgCl).

### **5.10 Análises quimiométricas**

As análises quimiométricas foram realizadas utilizando-se do software STATISTICA 6.0 que foi cedido pelo Prof. Dr. Roy Edward Bruns, Instituto de Química da Universidade de Campinas (Unicamp). Os dados foram tratados pela Prof<sup>a</sup>. Dra. Ieda Spacino Scarminio do departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Para este estudo foram realizadas análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

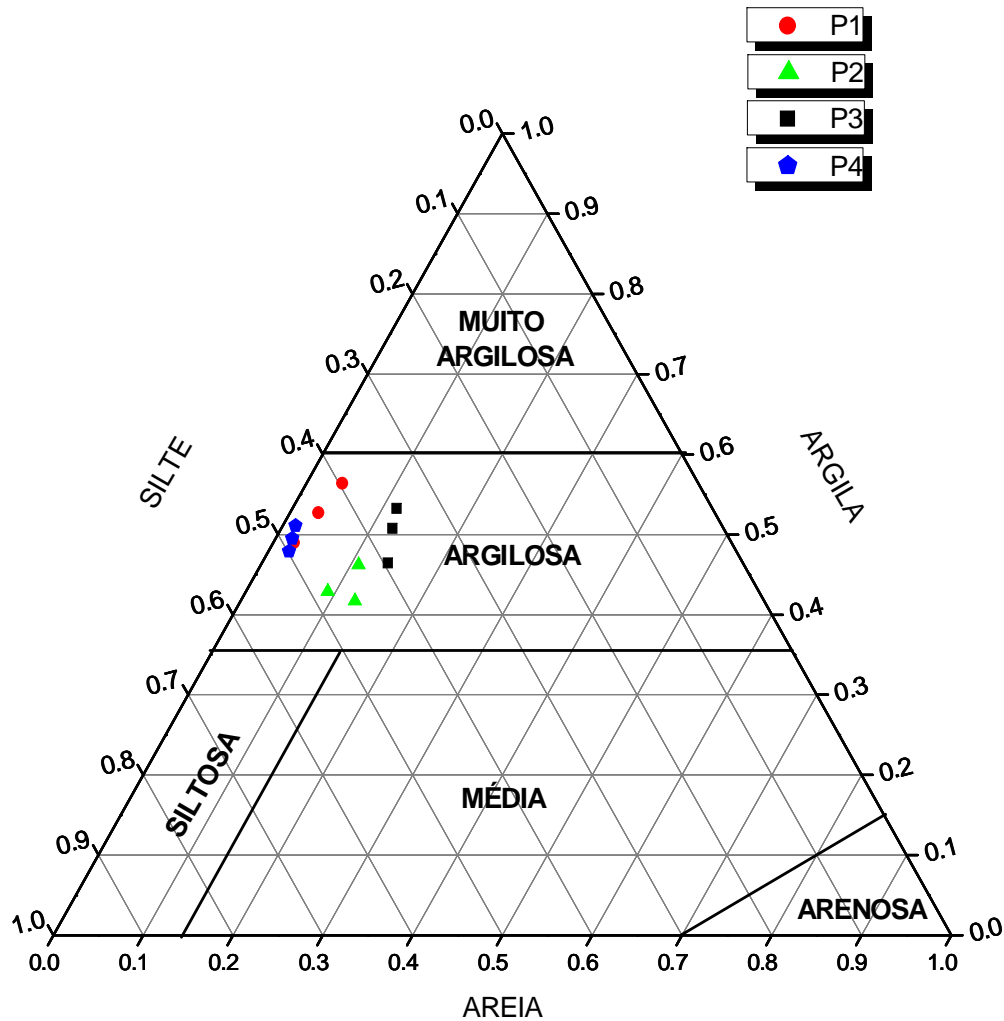
### 6.1 Granulometria

A classificação textural do sedimento é uma importante ferramenta na compreensão da composição da MO sedimentar. Sabe-se que a MO concentra-se preferencialmente na região que contém sedimentos com grãos de menor granulometria (Porto Filho, 1993). Ainda segundo Porto Filho (1993) os depósitos de um ambiente de sedimentação refletem também fatores ambientais tais como as condições climáticas e atividades tectônicas. No caso de ambientes aquáticos, os principais fatores físicos são a intensidade e velocidade das correntes e das ondas e as profundidades das colunas d'água; fatores ligados à hidrodinâmica ambiental.

Nas amostras de sedimento analisadas as frações de areia, silte e argila variaram de 1,4 a 14,1%, 41,7 a 56,4% e 35,1 a 49,8% respectivamente. Conforme o diagrama triangular de Shepard (1954) (Figura 14) a composição granulométrica das amostras é classificada como siltico-argilosa.

A composição siltico-argilosa pode indicar uma mudança do regime de sedimentação no manguezal, com uma menor energia de transporte nas deposições nos sedimentos mais recentes.

Segundo Soriano-Sierra (1993), o substrato do manguezal do Itacorubi não constitui um solo verdadeiro (no sentido pedológico da palavra), uma vez que é formado por um depósito de sedimentos finos, saturados de água salgada e sem estratificação em horizontes e nem evolução pedológica definida. Entretanto, o caráter polidisperso dos sedimentos indica que o ecossistema é caracterizado por processos ativos de sedimentação de partículas autóctones e alóctones de fontes terrígenas e marinhas. Esta característica é bastante evidente em manguezais de bacia, onde os processos hidrológicos e a altimetria do substrato favorecem a deposição destas partículas finas.



**Fig. 14** - Diagrama triangular de Shepard com a classificação granulométrica das amostras de sedimentos do manguezal do Itacorubi.

As maiores porcentagens de areia foram nos pontos P2 e P3 (Tabela 03) e mostram que o fluxo e refluxo da maré transportam maiores quantidades de partículas grosseiras (areias finas) até a superfície. A ação de processos erosivos em função da urbanização deste local também é responsável por este percentual de areia nestes pontos. Outra fonte de areia a ser considerada é o particulado grosseiro acumulado nos canais de esgoto e águas pluviais sendo transferido através de chuvas intensas e posteriormente depositado no manguezal.



**TAB. 03** - VALORES MÉDIOS EM PORCENTAGEM DE AREIA, SILTE E ARGILA DE SEDIMENTOS DO MANGUEZAL DO ITACORUBI

Amostras	% areias finas <sup>a</sup>	% silte <sup>a</sup>	% argila <sup>a</sup>
P1	3,2	52,7	44,1
P2	10,9	43,6	45,5
P3	12,7	50,2	37,1
P4	1,9	49,5	48,6

A – MÉDIAS DAS ANÁLISES REALIZADAS EM TRIPLICATAS

## 6.2 pH e potencial redox (Eh).

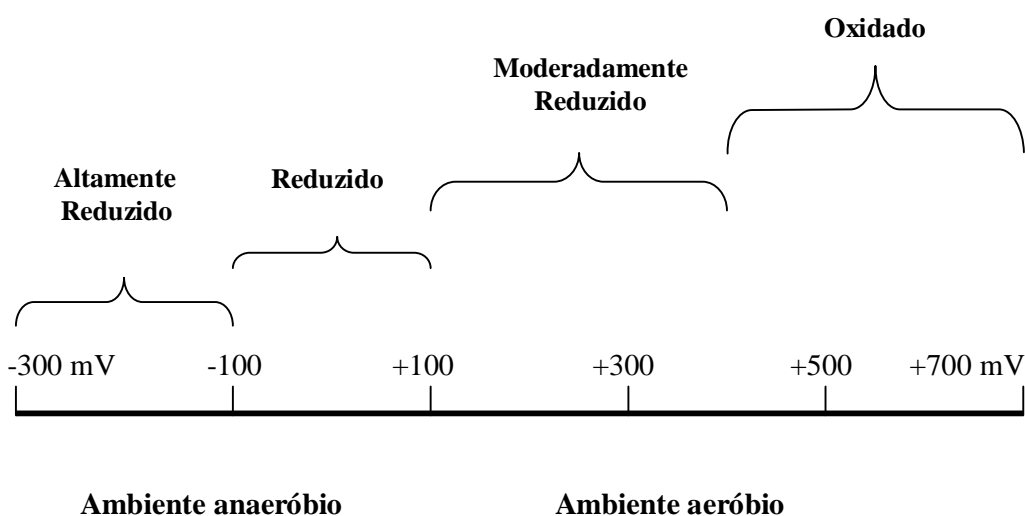
As medidas de pH realizadas “in situ” no manguezal (Tabela 04), indicaram um ambiente ligeiramente ácido, com valores entre 6,51 e 6,96. Não foram encontradas diferenças significantes entre os valores das amostras submersas e “secas”. Estes valores são similares aos encontrados por Marchand *et al.* (2003) em estudo realizado em um manguezal na costa da Guiana Francesa.

**TAB. 04** - PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS AMOSTRAS DE SEDIMENTOS OBTIDAS EM DIFERENTES PROFUNDIDADES DE INSERÇÃO DO ELETRODO

Amostra	Prof. (cm)	Eh (mV)	pH
P1	1	7	6,51
	3	- 51	
	5	- 83	
P2	1	- 405	6,81
	3	- 416	
	5	- 444	
P3	1	- 275	6,89
	3	- 270	
	5	n.d.	
P4	1	- 250	6,96
	3	- 363	
	5	- 427	

\*\*N.D – NÃO DETERMINADO DEVIDO ALTURA INSUFICIENTE DA AMOSTRA COLETADA.

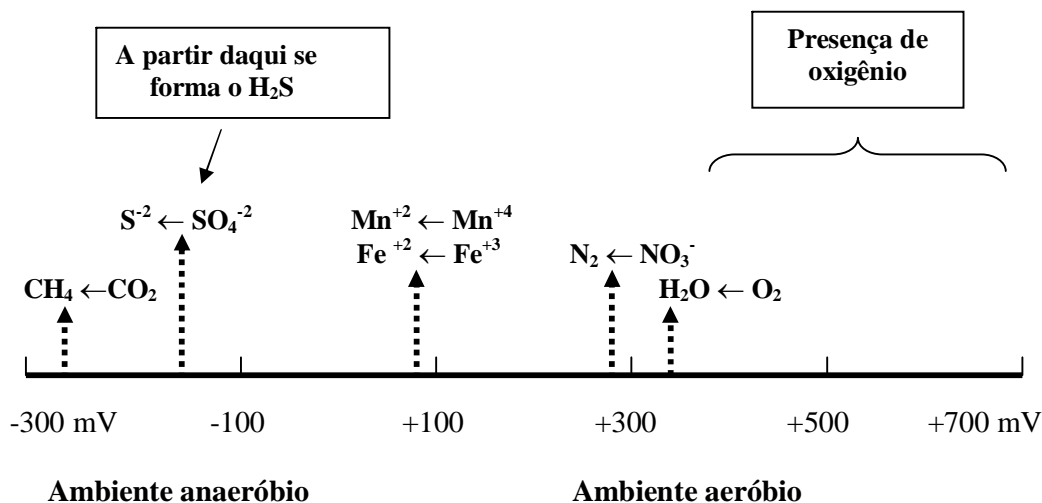
O Eh é um conceito físico-químico que indica a proporção de substâncias oxidadas (comuns em meios aeróbios) e reduzidas (comuns em ambientes anaeróbios) de uma solução. Os valores do potencial redox podem variar entre 400 e 700 mV em sedimentos ao ar livre (oxidados) e entre - 300 e - 250 mV nos submersos em água (reduzidos). Os valores obtidos para as amostras P2, P3 e P4 variaram entre - 444 mV a - 250 mV, caracterizando estes pontos como ambientes anaeróbios, conforme escala de potencial redox (Figura 15). Para P3 não foi possível a determinação de Eh em 5 cm em função da altura insuficiente da amostra coletada para a inserção do eletrodo com esta profundidade.



**Fig. 15** - Escala do potencial redox de sedimentos (Arana, 2003).

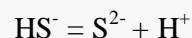
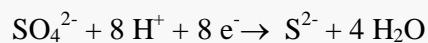
Esta classificação dá informações quanto às possíveis espécies químicas predominantes no ambiente bem como quanto à contribuição microbiana na redução destes ambientes (Figura 16).

O enxofre presente na MO se encontra dentro das proteínas, tanto de origem vegetal quanto animal. Quando as bactérias degradam a MO, utilizam parte do enxofre para a fabricação de seus próprios constituintes e mineralizam o restante.



**Fig. 16** - Seqüência de redução dos elementos presentes em sedimentos (Arana, 2003).

Em ambientes aeróbios, o enxofre encontra-se oxidado sob a forma de sulfato, já em ambientes anaeróbios sofre uma redução e transforma-se em ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S):

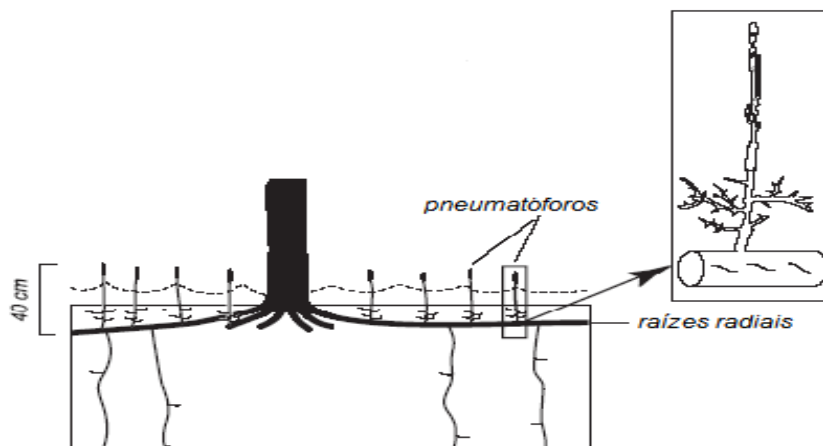


Bactérias sulfato-redutoras são as responsáveis pela conversão de sulfato para íons sulfeto. A formação de íons sulfeto e ainda metano pode ser evidenciada pelo forte odor característico apresentado nas amostras.

Para a amostra P1 o ambiente foi caracterizado como moderadamente reduzido. Os valores de Eh obtidos foram entre + 7 e - 83 mV. Explicações plausíveis para este aumento no Eh podem ser atribuídas a fatores biológicos ou físicos. Primeiro o sedimento pode ser oxigenado pela vegetação. A *Avicennia* é conhecida pelas suas extensas raízes radiais com pneumatóforos os quais são responsáveis pela troca de oxigênio entre a atmosfera e o sedimento (Figura 17). Além disso, a intensa bioturbação causada pelos orifícios no sedimento feitos por caranguejos também permite a troca de oxigênio entre a interface sedimento-atmosfera deixando o ambiente mais oxidado. É importante mencionar que a quantidade de água intersticial nesta

amostra foi maior do que nas demais, fato que também contribui para a oxidação do meio.

Esta avaliação do Eh foi importante para confirmar a degradação da MO sedimentar por bactérias, principalmente anaeróbias.



**Fig. 17** - Sistema da raiz de uma *Avicennia schaueriana* (Arana, 2003).

## 6.3 Composição elementar

### 6.3.1 Teor de carbono orgânico e MO extraída

O teor de carbono orgânico (% CO) é dado em termos de porcentagem em massa de sedimento analisado. Representa a quantidade total de carbono associada aos compostos orgânicos presentes nas amostras analisadas. Por outro lado a MO extraível (MOE) pode variar dependendo do tipo de solvente utilizado durante a extração. Estes parâmetros (% CO e MOE) são associados à granulometria do sedimento, sendo que, para sedimentos mais grosseiros, são esperados valores mais baixos para estes parâmetros do que para sedimentos com grânulos menores.

A Tabela 05 mostra o resultado obtido para % CO e MOE nas amostras de sedimento coletadas no manguezal do Itacorubi. Os valores de CO e MOE variaram de 1,86 a 4,27% e de 1,08 a 16,6 mg g<sup>-1</sup> respectivamente. Conforme resultados da análise granulométrica, os pontos P2 e P3, que contêm maiores porcentagens de areia, deveriam apresentar menores percentuais de CO e

MOE. Entretanto, possivelmente devido ao fato de que estes pontos de coleta são aqueles mais distantes da maré e mais próximos às vegetações do mangue, o teor de CO e MOE são maiores do que o esperado. A explicação se dá em função do material detritico proveniente das espécies predominantes neste meio que enriquecem a MO sedimentar

**TAB. 05** - DADOS OBTIDOS DO TEOR DE CARBONO ORGÂNICO (% CO), EM PORCENTAGEM DE SEDIMENTO ANALISADO E MO EXTRAÍDA (MOE), EM  $\text{MG G}^{-1}$  DE SEDIMENTO EXTRAÍDO PARA AMOSTRAS DO MANGUEZAL DO ITACORUBI

<b>Amostras</b>	<b>% CO</b>	<b>MOE (<math>\text{mg g}^{-1}</math>)</b>
P1	2,04	3,40
P2	4,27	16,60
P3	3,32	13,54
P4	1,86	1,08

### **6.3.2 Teor de nitrogênio, razões de carbono/nitrogênio e hidrogênio/carbono**

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no metabolismo de ecossistemas aquáticos. Esta importância deve-se ao fato do nitrogênio tanto fixado ou assimilado como nitrato ou amônia, ser incorporado em proteínas ou em outros compostos nos organismos. Na morte ou após a excreção, uma variedade de compostos é liberada; destes, amônia é o mais importante. Muitas bactérias heterotróficas tomam parte no processo de amonificação de compostos orgânicos. Tal processo é o resultado da desaminação que ocorre quando uma proteína ou produtos de sua hidrólise são usados como fonte de energia (Tenore, 1983).

Segundo Bowden (1984), tecidos de plantas mortas recentemente, contêm somente de 0,8% a 0,9% de nitrogênio, dependendo da espécie de planta. A adição de nitrogênio vem então, da imobilização microbiana e de plantas frescas.

Para melhor interpretação destas informações foram analisadas além de amostras de sedimento, amostras das 04 espécies de plantas predominantes no manguezal, conforme Tabela 06.

**TAB. 06** - VALORES DE CARBONO ORGÂNICO (CO), N, H E RAZÕES ATÔMICAS: H/C E C/N DE AMOSTRAS DE SEDIMENTO E PLANTAS DO MANGUEZAL DO ITACORUBI

Amostras	CO	N	H	C/N	H/C
P1	2,04	0,22	1,20	9,27	0,59
P2	4,27	0,41	1,66	10,41	0,39
P3	3,32	0,40	1,59	8,3	0,48
P4	1,86	0,26	1,47	7,15	0,79
<i>Avic</i>	41,94	1,90	5,92	22,07	0,15
<i>Lag</i>	45,17	1,71	5,62	26,42	0,12
<i>Rhiz</i>	45,42	1,82	6,41	24,96	0,14
<i>Spar</i>	39,69	1,52	5,51	26,11	0,14

Os valores encontrados de nitrogênio nas amostras de sedimento estão abaixo daqueles citados por Bownden (1984), isto pode indicar que está ocorrendo uma rápida mineralização da MO no sedimento, conforme citado por Vernet *et al.* (1990).

Razões de C/N em MO sedimentar são úteis na distinção entre o aporte de MO proveniente de algas e plantas superiores. A presença ou ausência de celulose em plantas influencia a razão em amostras de sedimento. Plantas avasculares apresentam tipicamente valores entre 4 e 8, enquanto que plantas vasculares apresentam razões próximas de 20 ou maiores. Como os pontos de análise foram coletados próximos à vegetação superior, esperava-se valores de C/N próximos ou superiores a 20. Entretanto, os valores de C/N das amostras de sedimento variaram entre 7,15 e 10,41 demonstrando uma mistura de influências de aporte de algas aquáticas, bactérias e plantas superiores. Estes valores se devem à ação planctônica e/ou bacteriana na MO, cuja degradação diminui a razão C/N pela imobilização microbiana de nitrogênio e a mineralização de carbono.

De forma análoga, a razão H/C também determina a origem da MO em que contribuições de plantas superiores, fitoplâncton e zooplâncton podem ser inferidas (Meyers & Ishiwatari, 1993).

Conforme pode ser verificado através dos valores da Tabela 06, as espécies de plantas aqui estudadas apresentaram valores considerados baixos

de H/C, entre 0,12 e 0,15 podendo ser justificados pelo alto conteúdo de ligninas e carboidratos presentes em plantas superiores.

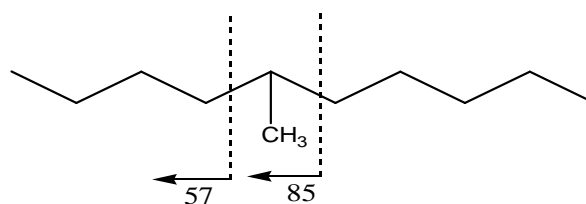
As amostras de sedimento apresentaram valores pouco superiores a estes, variando entre 0,39 e 0,79 sendo mais característico portanto de aporte planctônico com uma grande quantidade de proteínas e lipídios. Os valores de H/C para derivados de plâncton é de 1,7 e 1,9 (Tissot & Welte, 1984). Os valores intermediários de H/C encontrados nas amostras de sedimento podem ser um indicativo do avançado estágio de degradação da MO com perdas de substâncias alifáticas e aromatização de compostos cíclicos (Tissot & Welte, 1984).

Com base nestas informações podemos confirmar o aporte misto da MO sedimentar dos pontos estudados tendo contribuição tanto terrestre proveniente de plantas superiores quanto aquática de plâncton e bactérias.

## 6.4 BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS

### 6.4.1 Hidrocarbonetos alifáticos

A identificação cromatográfica dos hidrocarbonetos alifáticos foi realizada através de padrões comerciais, comparações com dados da literatura e através da varredura do fragmento de m/z 85 (Figura 18). As concentrações individuais de hidrocarbonetos foram calculadas com base no peso do extrato total seco das amostras. As porcentagens referentes aos hidrocarbonetos totais foram obtidas através das áreas dos picos do fragmentograma m/z 85.



**Fig. 18** - Rota de fragmentação de hidrocarbonetos alifáticos.

Os hidrocarbonetos com oito ou mais átomos de carbono têm espectros muito semelhantes. O pico em m/z 85 corresponde à quebra na estrutura ao lado da ramificação do composto dado como exemplo (Figura 18), com

retenção de carga no átomo de carbono substituído e gerando um pico de média a forte intensidade. Uma característica importante na identificação de hidrocarbonetos são as quebras seqüenciais com  $m/z - 14$  (perdas de  $\text{CH}_2$ ).

As concentrações de hidrocarbonetos totais estiveram entre 27,5 e 34,6  $\mu\text{g g}^{-1}$  de extrato seco para os sedimentos, enquanto que as plantas apresentaram concentrações entre 8,8 e 38,8  $\mu\text{g g}^{-1}$  de extrato seco (Tabela 07). Estes valores de concentração de hidrocarbonetos caracterizam ambientes costeiros não poluídos a moderadamente poluídos e/ou ambientes costeiros à mar aberto (Volkman *et al.*, 1992). Os pontos que apresentaram maiores concentrações totais de hidrocarbonetos foram P1 e P3. Observou-se que dentre as plantas a *Spartina alterniflora* foi a que apresentou a menor concentração de hidrocarbonetos totais (8,8  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Esse resultado pode ser justificado por esta espécie ser uma planta avascular, contendo dessa forma menores concentrações de celulose e lignina em sua composição.

**TAB. 07** - DISTRIBUIÇÃO DE HIDROCARBONETOS ( $\mu\text{g g}^{-1}$  PESO SECO) DO EXTRATO TOTAL (E1) DE AMOSTRAS DE PLANTAS E SEDIMENTOS DO MANGUEZAL DO ITACORUBI

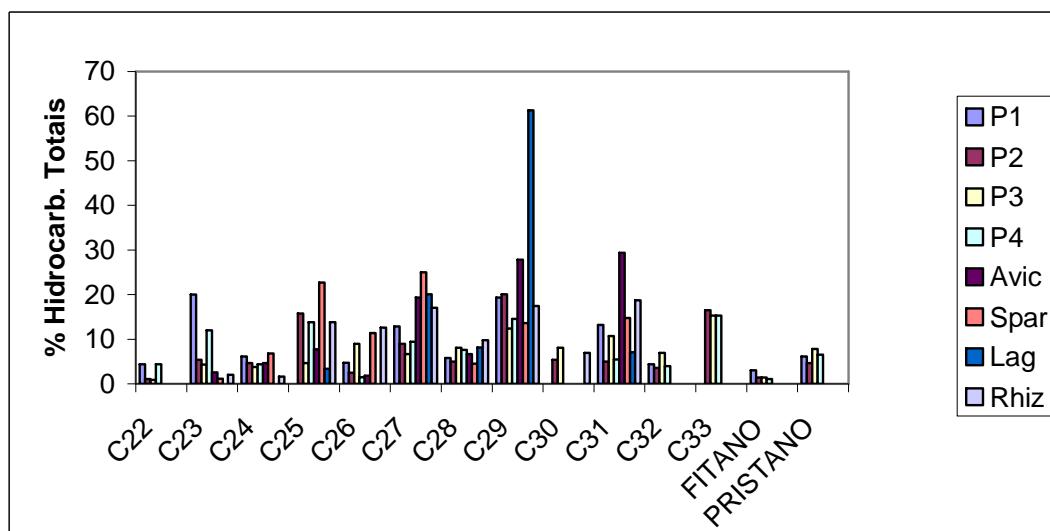
HIDROCARBONETOS	P1	P2	P3	P4	Avic	Lag	Rhiz	Spar
C <sub>22</sub>	1,3	0,3	0,3	1,2	--	--	--	--
C <sub>23</sub>	5,9	1,5	1,5	3,3	1,0	--	0,5	0,1
C <sub>24</sub>	1,8	1,3	1,3	1,2	1,8	--	0,4	0,6
C <sub>25</sub>	--	4,4	1,6	3,8	3,0	0,9	3,4	2,0
C <sub>26</sub>	1,4	0,7	3,1	0,4	0,7	--	3,1	1,0
C <sub>27</sub>	3,8	2,5	2,3	2,6	7,5	5,4	4,2	2,2
C <sub>28</sub>	1,7	1,4	2,8	2,1	2,6	2,2	2,4	0,4
C <sub>29</sub>	5,7	5,6	4,3	4,0	10,8	16,5	4,3	1,2
C <sub>30</sub>	--	1,5	2,8	--	--	--	1,7	--
C <sub>31</sub>	3,9	1,4	3,7	1,5	11,4	1,9	4,6	1,3
C <sub>32</sub>	1,3	1,0	2,4	1,1	--	--	--	--
C <sub>33</sub>	--	4,6	5,3	4,2	--	--	--	--
Fitano	0,9	0,4	0,5	0,3	--	--	--	--
Pristano	1,8	1,3	2,7	1,8	--	--	--	--
<b>Hc totais</b>	<b>29,5</b>	<b>27,9</b>	<b>34,6</b>	<b>27,5</b>	<b>38,8</b>	<b>26,9</b>	<b>24,6</b>	<b>8,8</b>

\*\* ( -- ) NÃO DETECTADO



Através da abundância relativa dos hidrocarbonetos pôde-se verificar uma predominância de n-alcenos ímpares em relação aos pares (Figura 19).

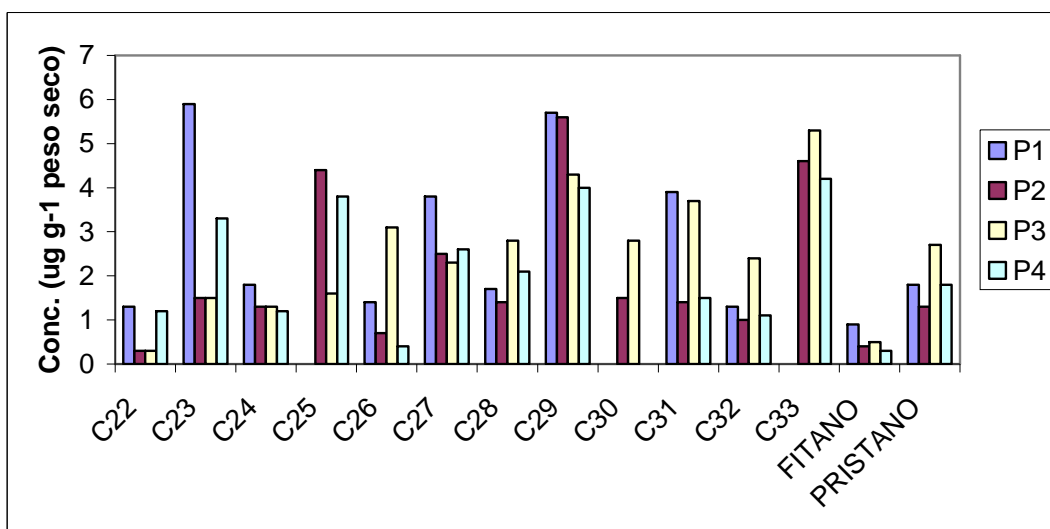
As porcentagens de  $C_{27}$ ,  $C_{29}$ ,  $C_{31}$  e  $C_{33}$  somaram valores entre 44,73 e 50,54% do total, sendo o  $C_{29}$  o hidrocarboneto mais abundante em todos os pontos de coleta dos sedimentos e também para as plantas. Estes valores sugerem, portanto, uma grande influência do aporte de MO terrestre, pois estes compostos são provenientes das ceras epicuticulares de plantas superiores (Eglinton & Hamilton, 1967).



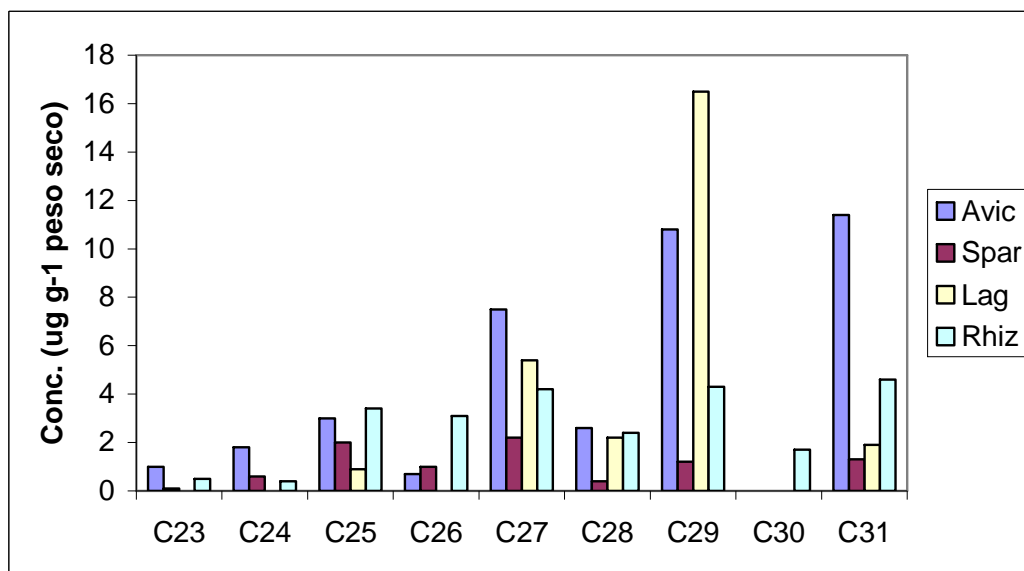
**Fig. 19** – Abundância relativa de hidrocarbonetos totais do extrato total (E1) das amostras de sedimentos e plantas do manguezal do Itacorubi.

As concentrações individuais dos n-alcenos contendo de 22 a 33 átomos de carbono das amostras de sedimento e plantas do manguezal do Itacorubi estão relacionadas nas Figuras 20 e 21. A não identificação de alcanos de cadeias curtas nos sedimentos principalmente  $C_{17}$  e  $C_{19}$ , característicos de fitoplâncton ( $< C_{24}$ ), se deve ao fato de que estes são preferencialmente removidos durante os processos de decomposição diagenética. Isto pode ser explicado por serem substratos mais adequados para microorganismos do que homólogos de cadeias maiores. Além disso, também se sugere que os homólogos de cadeias maiores podem estar associados a biopolímeros refratários, resultando em baixa susceptibilidade à degradação (McCaffrey *et al.*, 1991).

A distribuição dos hidrocarbonetos das amostras de sedimento tem características semelhantes as das plantas analisadas, diferenciando-se apenas pela concentração. Ressalta-se mais uma vez a grande influência do material detrítico de folhas e raízes das plantas presentes no mangue na MO sedimentada neste ambiente.

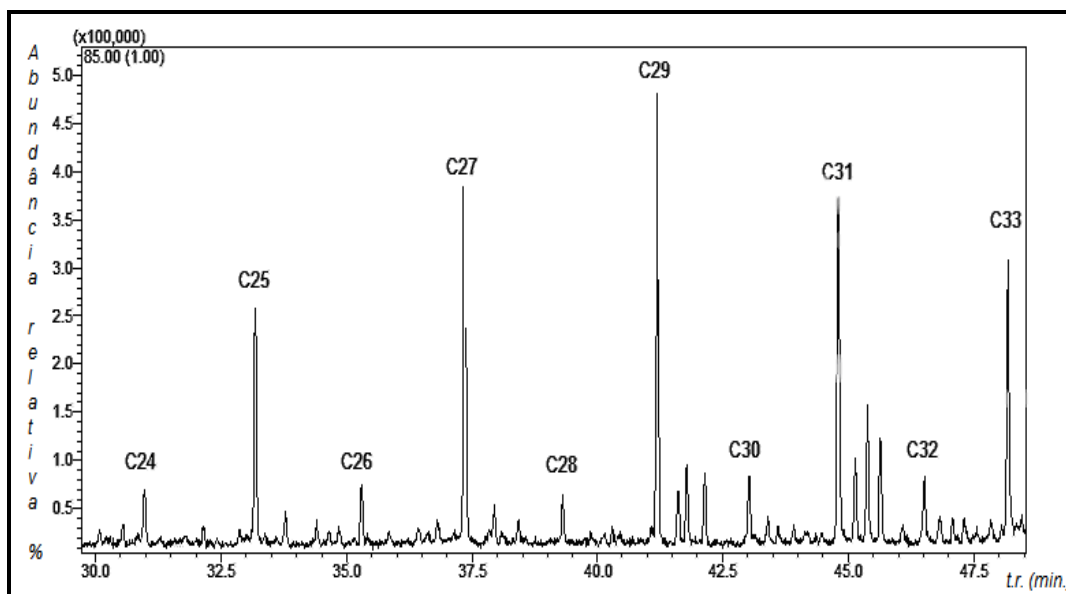


**Fig. 20** – Concentrações individuais de hidrocarbonetos ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) do extrato total (E1) de amostras de sedimentos do manguezal do Itacorubi.



**Fig. 21** – Concentrações individuais de hidrocarbonetos ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) do extrato total (E1) de amostras de folhas de plantas do manguezal do Itacorubi.

Através do perfil cromatográfico de P1E1 (Figura 22) pode-se verificar a predominância de hidrocarbonetos de cadeias ímpares sobre pares, sendo também mais uma característica importante do aporte terrestre.



**Fig. 22** - Fragmentograma  $m/z$  85 referente a hidrocarbonetos da amostra P1E1.

Os hidrocarbonetos isoprenóides pristano (2,6,10,14-tetrametilpentadecano) e fitano (2,6,10,14-tetrametilhexadecano) são característicos de petróleo, sendo os constituintes majoritários dentre os isoprenóides e portanto freqüentemente utilizados como indicadores de contaminação por combustíveis fósseis (Volkman *et al.*, 1992). Pristano e fitano são produtos de alterações geológicas de fitol e outros isoprenóides naturais e não são constituintes primários da maioria da biota terrestre (Peters & Moldowan, 1993). Em sedimentos não contaminados, a razão pristano/fitano é maior que 1, tipicamente entre 3 e 5. Entretanto, valores maiores dessa razão podem ser justificados pela presença de pristano derivado de zooplâncton (Blumer *et al.*, 1963). Valores inferiores a 1 indicam a presença de produtos de origem petrogênica. Conforme valores estabelecidos pela Tabela 08, as amostras analisadas apresentaram valores entre 2 e 6, sugerindo portanto um ambiente não contaminado por estes produtos.

Índices Preferenciais de Carbono (IPC) foram estabelecidos também para avaliar a origem da MO do ambiente em estudo (Tabela 08). Os valores obtidos entre 1,78 e 3,13 para os sedimentos sugerem uma contribuição

terrestre com influência do aporte marinho, cujos valores típicos são entre 1,0 e 1,5.

**TAB. 08** - ÍNDICE PREFERENCIAL DE CARBONO (IPC) E RAZÃO PRISTANO/FITANO DE AMOSTRAS DE SEDIMENTOS E PLANTAS DO MANGUEZAL DO ITACORUBI

<b>AMOSTRA</b>	<b>IPC</b>	<b>RAZÃO PRISTANO/FITANO</b>
P1	3,11	2,00
P2	2,77	3,25
P3	1,78	5,40
P4	3,13	6,00
Avic	6,61	--
Lag	11,23	--
Rhiz	2,23	--
<b>Spar</b>	3,4	--

Outro índice utilizado é o RTA (Razão Terrestre-Aquática). Este índice fornece a relação entre compostos da mesma família, mas com diferentes fontes biogênicas. Neste estudo não foi possível a obtenção deste índice em função de não se identificar os hidrocarbonetos C<sub>15</sub>, C<sub>17</sub> e C<sub>19</sub>. Portanto, pode-se afirmar que através deste índice o maior aporte da MO analisada responsável pela distribuição de hidrocarbonetos é de origem terrestre em concordância com os dados aqui demonstrados.

#### 6.4.2 Ácidos carboxílicos

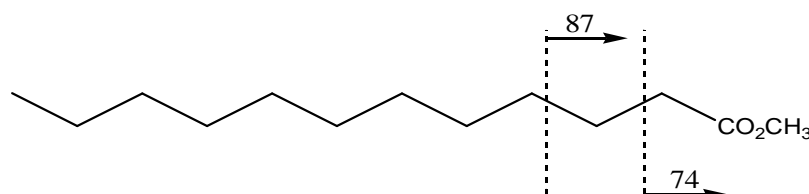
A distribuição dos ácidos nas frações dos lipídios “livres” (E1), “OH lábeis” (E2 e E3) e “H lábeis” (E4), obtida das amostras de sedimento e folhas, é apresentada nesta seção. Abordam-se ainda informações sobre a fonte e a alteração da MO a partir da distribuição de cada classe ou subclasse ácida, baseadas na literatura.

Em seqüência relatam-se as possíveis fontes de organismos e a degradação diagenética das amostras aqui analisadas.

A identificação dos ácidos monocarboxílicos (saturados, insaturados e ramificados do tipo iso e anteiso) foi feita através do íon m/z 87 na fração dos

lipídios livres, uma vez que estes compostos são facilmente extraíveis com solventes orgânicos.

Os ácidos aqui identificados estão na forma de metil ésteres caracterizados pelo pico base (m/z 74) que ocorre a partir do rearranjo de McLafferty  $[\text{CH}_3\text{-O-C(OH)=CH}_2]^+$ , e da formação do pico característico (m/z 87) conforme ilustrado na Figura 23.



**Fig. 23** - Picos característicos da fragmentação de ácidos carboxílicos lineares sob a forma de ésteres metílicos.

A distribuição de ácidos monocarboxílicos em sedimentos reflete tanto contribuições de microalgas quanto de plantas superiores e ainda a extensão das alterações diagenéticas (Tabela 09).

**TAB. 09** – INFORMAÇÕES SOBRE FONTES DE MO E ALTERAÇÕES NAS ESTRUTURAS DE ÁCIDOS MONOCARBOXÍLIICOS ENCONTRADOS EM SEDIMENTOS MARINHOS (GARCETTE-LEPECQ *ET AL.*, 2004)

<b>Ac. Monocarboxílicos saturados</b>	
Cadeias médias ( $\text{C}_{12}\text{-C}_{20}$ ), predominantemente pares	Microalgas
Cadeias longas ( $>\text{C}_{20}$ )	Ceras epicuticulares de plantas superiores
<b>Ac. Monocarboxílicos insaturados</b>	
$\text{C}_{16:1} \omega 7,9(\text{Z})$ - ác. hexadecenóico	Geralmente associado com diatomáceas
$\text{C}_{18:1} \omega 9,9(\text{Z})$ - ác. octadecenóico	Microalgas
$\text{C}_{16:1} \omega 10,6$ - ác. Hexadecenóico e $\text{C}_{18:1} \omega 7,11(\text{E})$ - ác. octadecenóico	Bactérias Gram-negativas (espécies aeróbias e anaeróbias)
$\text{C}_{17:1}$	Bactérias sulfato-redutoras e anaeróbio fermentadoras.
<b>Ac. Monocarboxílicos insaturados ramificados e saturados</b>	
Cadeias médias ( $\text{C}_{13}\text{-C}_{19}$ ), ímpares, iso ou anteiso, usualmente $\text{C}_{15}$ ou $\text{C}_{17}$	Bactérias Gram-positivas, geralmente ausentes em Gram-negativas exceto bactérias sulfato redutoras

O perfil da composição dos ácidos monocarboxílicos foi similar em quase todas as frações, apresentando-se em maiores concentrações na fração “livre” (E1) (Tabela 10) conferindo assim importantes informações quanto ao aporte e processos diagenéticos da MO do ambiente em estudo.

Observou-se através da distribuição desses compostos que ocorreu a presença de ácidos lineares saturados  $C_{10}$ - $C_{27}$  nas amostras de sedimento e de  $C_{14}$ - $C_{32}$  nas folhas. Este perfil descreve o aporte sedimentar tanto aquático, proveniente de microalgas ( $C_{12}$ - $C_{20}$ ), quanto terrestre de plantas superiores ( $>C_{20}$ ).

A distinção entre os aportes aquáticos e terrestres na composição ácida de sedimentos pode ser uma tarefa difícil. Um acréscimo na contribuição relativa de ácidos  $> C_{20}$  comparados com  $C_{12}$ - $C_{20}$  pode refletir um aumento relativo do influxo de plantas superiores e/ou um acréscimo do nível de alteração dos ácidos de cadeia média, preferencialmente degradados, derivados de algas. Isso é decorrente do fato de que em áreas costeiras com larga influência fluvial um influxo alotóctone de algas de água doce também pode contribuir com ácidos de cadeia média em adição aos ácidos provenientes de algas marinhas.

Com relação aos índices de IPC e RTA, os resultados confirmam os dados discutidos acima. Os valores obtidos foram entre 1,42 e 6,5 para IPC (aporte aquático e terrestre) e RTA entre 0,1 e 0,27 (aporte aquático). Não foi possível calcular o RTA para todas as amostras em função da não identificação de alguns ácidos de cadeias longas como  $C_{28}$  e  $C_{30}$ .

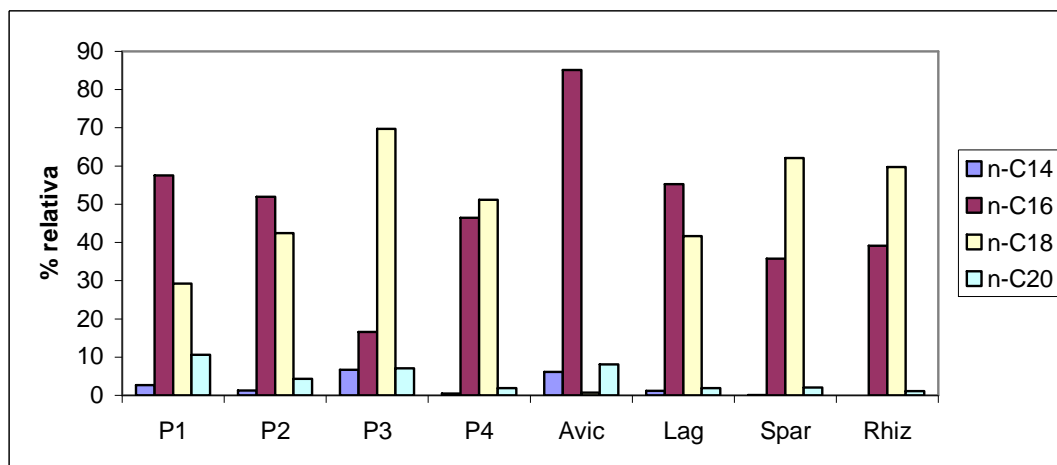
A Figura 24 revela uma concordância entre a composição de ácidos lineares saturados de cadeias médias das amostras de sedimento e das folhas das espécies do mangue na contribuição destes na sedimentação da MO.

Ácidos saturados  $C_{16}$  e  $C_{18}$  são majoritários em todas as amostras, demonstrando uma predominância de compostos de cadeia par sobre ímpar, mais uma característica de aporte terrestre. A razão  $C_{16}/C_{18}$  se manteve equivalente entre os pontos P1 e P2, entretanto para P3 e P4 houve uma inversão nesta razão, sendo maiores as concentrações de  $C_{18}$ . Para a *Avicennia* e *Laguncularia* o ácido  $C_{16}$  foi o predominante, ao contrário do observado para *Spartina* e *Rhizophora*.

**TAB. 10** - DISTRIBUIÇÃO DE ÁCIDOS MONOCARBOXÍLICOS DO EXTRATO TOTAL (E1) DE AMOSTRAS DE SEDIMENTO E FOLHAS

Composto	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ extrato seco)							
	P1	P2	P3	P4	Avic	Lag	Spar	Rhiz
n-C <sub>10</sub>	0,1	0,3	--	0,6	--	--	--	--
n-C <sub>12</sub>	0,8	3,0	--	11,5	--	--	--	--
n-C <sub>13</sub>	0,5	0,5	--	0,4	--	--	--	--
n-C <sub>14</sub>	1,4	1,1	1,9	1,3	6,3	3,4	0,37	--
ai-C <sub>14</sub>	--	--	--	--	0,7	0,9	0,9	0,9
ai-C <sub>14</sub> 5,9,13	1,1	0,6	43,8	--	--	--	--	--
i-C <sub>14</sub>	7,8	5,5	--	5,2	--	--	--	--
n-C <sub>15</sub>	4,2	4,2	--	5,4	--	--	--	--
ai-C <sub>15</sub>	7,3	9,6	7,7	18,7	--	--	--	--
i-C <sub>15</sub>	3,5	2,2	6,7	2,3	--	--	--	--
n-C <sub>16</sub>	29,9	44,7	4,7	123,3	87,5	159,9	181,1	126,1
n-C <sub>16:1</sub> $\omega$ 7- cis	1,7	--	--	--	--	--	--	--
n-C <sub>16:1</sub> $\omega$ 7- trans	0,8	2,3	--	3,4	--	--	--	--
n-C <sub>16:1</sub> $\omega$ 9 - cis	7,3	0,4	--	2,9	--	--	--	--
ai-C <sub>16</sub>	4,5	2,6	--	3,9	--	--	--	--
i-C <sub>16</sub>	--	--	5,1	--	--	--	--	--
ai-C <sub>17</sub>	5,1	1,8	--	1,7	--	--	--	--
i-C <sub>17</sub>	1,5	8,2	--	1,1	--	--	--	--
n-C <sub>17</sub>	4,0	2,8	--	7,7	--	--	--	--
n-C <sub>18</sub>	15,2	36,5	19,8	135,7	0,7	120,6	314,1	192,4
n-C <sub>18:3</sub> - trans	--	--	--	--	1,7	206,5	22	6,3
n-C <sub>18:1</sub> $\omega$ 10	6,7	3,6	--	49,7	--	--	--	--
n-C <sub>18:1</sub> $\omega$ 15	8,0	4,6	5,9	31,1	--	--	--	--
n-C <sub>18:1</sub> $\omega$ 19-cis	1,3	0,4	--	1,3	--	--	--	--
ai-C <sub>18</sub>	6,7	5,7	--	4,7	--	--	--	--
n-C <sub>19</sub>	--	--	--	--	0,1	--	--	0,3
n-C <sub>19:1</sub> $\omega$ 10	2,5	--	--	--	--	--	--	--
n-C <sub>19:1</sub> $\omega$ 10	2,1	0,9	--	--	--	--	--	--
n-C <sub>19:1</sub> $\omega$ 11	2,5	0,7	--	1,8	--	--	--	--
n-C <sub>20</sub>	5,5	3,7	2,0	4,9	8,3	5,5	10,3	3,5
n-C <sub>21</sub>	4,0	--	--	--	--	1,5	--	--
n-C <sub>22</sub>	5,3	3,5	2,8	4,8	5,7	7,2	8,7	2,0
n-C <sub>22:1</sub> $\omega$ 13-cis	1,7	0,5	--	2,6	--	--	--	--
n-C <sub>22:1</sub> $\omega$ 13-trans	3,2	--	--	1,6	--	--	--	--
n-C <sub>23</sub>	2,6	1,4	--	1,7	2,3	3,0	2,1	2,6
n-C <sub>24</sub>	8,6	5,6	2,7	7,4	4,0	5,6	5,8	2,6
n-C <sub>25</sub>	5,2	--	--	--	2,2	1,5	--	0,6
n-C <sub>26</sub>	--	--	7,0	2,7	6,7	2,9	0,6	10,8
n-C <sub>27</sub>	--	--	--	8,4	3,1	0,8	0,5	1,7
n-C <sub>28</sub>	--	--	--	--	--	6,2	--	30,8
n-C <sub>32</sub>	--	--	--	--	--	12,2	0,9	21,4

\*\* ( -- ) NÃO DETECTADO



**Fig. 24** - Distribuição relativa de ácidos lineares saturados ( $C_{14}$ - $C_{20}$ ) do extrato total (E1) das amostras de plantas e sedimentos.

Em quantidades significantes também foram detectados nos sedimentos ácidos insaturados, principalmente  $C_{16}$  e  $C_{18}$  associados a microalgas e bactérias. A posição da dupla ligação pode ajudar a discriminar quais os tipos de precursores contribuintes, tais como microalgas (diatomáceas) e/ou bactérias (sulfato redutoras). Ácidos mono-insaturados  $C_{16:1}$  e  $C_{18:1}$  foram os predominantes nos sedimentos superficiais. Eles são derivados de fitoplâncton, microalgas e bactérias. Nas folhas da *Laguncularia* foram detectadas altas concentrações de n- $C_{18:3}$  – trans ( $206,5 \mu\text{g g}^{-1}$  extrato seco).

Os ácidos saturados ramificados são biomarcadores de bactérias, incluindo espécies Gram-positivas em geral e as sulfato redutoras entre as bactérias Gram-negativas. Os correspondentes saturados *iso* ou *anteiso* de cadeias médias ( $C_{14}$ - $C_{19}$ ) foram detectados no sedimento, sendo predominantes os ácidos  $C_{15}$  e  $C_{17}$ .

A formação biológica de hidroxiácidos é caracterizada pela alta diversidade em termos de precursores e composição química. (Tabela 11). Além disso, hidroxiácidos em MO sedimentar podem ser originários da produção diagenética *in situ* através da oxidação microbiológica de ácidos monocarboxílicos. A oxidação diagenética preferencialmente resulta na formação de  $\beta$ -,  $\omega$  e  $(\omega-1)$  hidroxiácidos uma vez que (i) a rota de  $\beta$ -oxidação é mais eficiente que  $\alpha$  na produção de hidroxiácidos como intermediários no catabolismo de ácidos carboxílicos e (ii)  $\omega$  e  $(\omega-1)$  são comumente produzidos

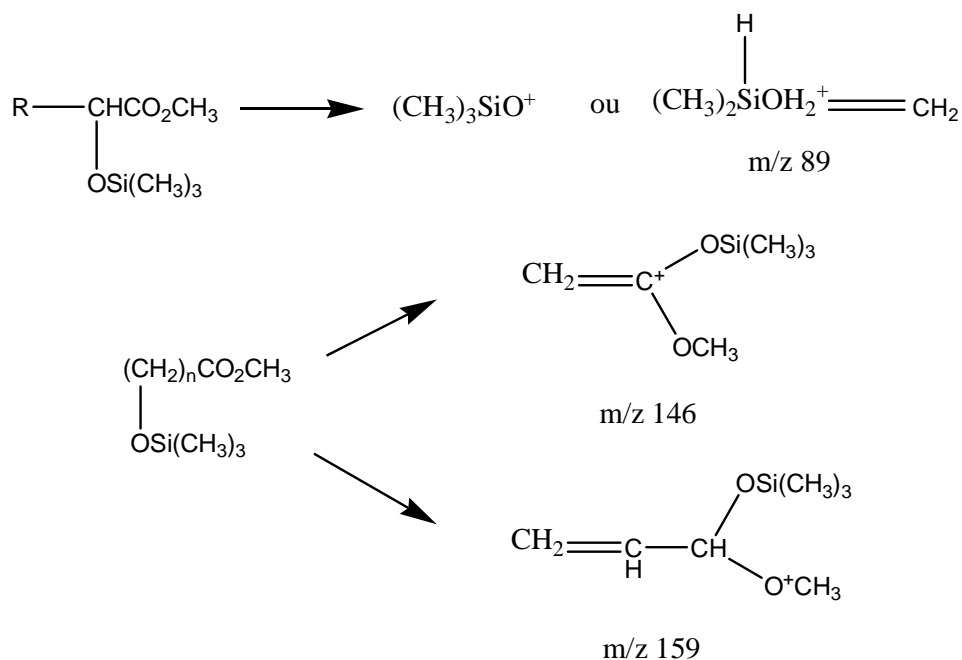


pela oxidação terminal de ácidos graxos e intermediários na oxidação de ácidos mono a dicarboxílicos (Kawamura *et al.*, 1987).

**TAB. 11** – INFORMAÇÕES SOBRE FONTES DE MO E ALTERAÇÕES DIAGENÉTICAS DE HIDROXIÁCIDOS MONOCARBOXÍLICOS EM SEDIMENTOS MARINHOS (GARCETTE-LEPECQ *ET AL.*, 2004)

<b>Hidroxiácidos n-saturados</b>	
Cadeia média e longa (C <sub>16</sub> -C <sub>30</sub> ), pares, ésteres α-OH ácidos	Microalgas
Cadeia média (C <sub>10</sub> -C <sub>20</sub> ), pares, amida β-OH ácidos	Exclusivamente de origem bacteriana (bactérias sulfato-redutoras, cianobactérias e metanotróficas)
Cadeia longa (C <sub>26</sub> -C <sub>30</sub> ), pares, ésteres β-OH ácidos	Microalgas
Cadeia média e longa (C <sub>16</sub> -C <sub>28</sub> ), pares, ésteres ω-OH ácidos	Cutinas, suberinas e ceras epicuticulares de plantas superiores.
Cadeia longa C <sub>26</sub> , C <sub>28</sub> , e C <sub>30</sub> (ω-1) OH ácidos	Bactérias metanotróficas.

A identificação de α e ω-OH ácidos foi realizada através da varredura de fragmentos chave como m/z 89 (α-OH) e m/z 146 + 159 (ω-OH) conforme fragmentações sugeridas (Figura 25). Não foram detectados e/ou identificados β-OH ácidos em nenhuma das amostras analisadas.



**Fig. 25** - Principais fragmentações de α e ω-hidroxi metil ésteres, TMSi éteres.

**TAB. 12** - ABUNDÂNCIA RELATIVA INDIVIDUAL (%) DE  $\alpha$  - E  $\omega$  - OH ÁCIDOS OBTIDOS VIA TRATAMENTOS SEQUÊNCIAIS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS E FOLHAS

Composto	Abundância relativa individual (%)							
	P1	P2	P3	P4	Avic	Lag	Spar	Rhiz
$\alpha$ -OH C <sub>16</sub>	1,69	12,46	10,73	--	--	--	--	--
$\alpha$ -OH C <sub>17</sub>	1,84	3,35	13,03	17,74	--	--	--	--
$\omega$ -OH C <sub>16</sub>	33,16	37,04	29,78	1,06	--	--	--	--
$\alpha$ -OH C <sub>18</sub>	2,46	3,76	0,42	4,74	--	--	--	--
$\alpha$ -OH C <sub>20</sub>	2,20	4,27	3,83	21,47	7,06	2,66	13,83	9,06
$\omega$ -OH C <sub>18</sub>	38,94	9,00	22,74	0,75	--	--	--	--
$\alpha$ -OH C <sub>22</sub>	2,25	5,69	--	8,18	0,21	--	--	--
$\alpha$ -OH C <sub>23</sub>	2,30	2,00	2,43	17,90	6,82	4,53	7,86	9,54
$\alpha$ -OH C <sub>24</sub>	8,62	5,09	7,71	7,03	12,36	8,09	17,76	37,73
$\alpha$ -OH C <sub>25</sub>	1,81	2,13	--	--	--	4,39	3,39	7,99
$\alpha$ -OH C <sub>26</sub>	0,15	0,80	--	14,60	0,64	1,45	4,90	4,22
$\omega$ -OH C <sub>22</sub>	3,65	10,07	8,89	0,32	--	--	--	--
$\alpha$ -OH C <sub>27</sub>	0,93	4,34	0,46	6,21	--	--	--	--
$\omega$ -OH 9,10,16 - C <sub>16</sub>	--	--	--	--	69,75	78,76	50,87	--
$\omega$ -OH 9,10 - C <sub>18</sub>	--	--	--	--	3,16	0,11	--	2,58
$\omega$ -OH C <sub>18:1</sub>	--	--	--	--	--	--	--	28,87

\*\* (--) NÃO DETECTADO

Os  $\alpha$ -OH ácidos foram encontrados somente após tratamento ácido (fração E4) indicando que estão presentes ligados como amidas ou glicosídeos. Já os  $\omega$ -OH ácidos foram identificados na fração E3 (hidrólise básica). A abundância relativa destes compostos encontra-se relacionada na Tabela 12.

A presença de  $\alpha$ -OH ácidos C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub> vem reforçar novamente o aporte de microalgas na MO sedimentar, sendo confirmado pela ausência destes nas amostras das folhas do mangue. Entretanto, as folhas apresentaram concentrações de  $\alpha$ -OH ácidos de cadeia longa (C<sub>20</sub>-C<sub>26</sub>), sendo estes biomarcadores referentes a cutinas, suberinas e ceras destas plantas. A presença de  $\omega$ -OH ácidos tanto em sedimentos quanto em folhas está

relacionada à  $\omega$ -oxidação microbiana e/ou pela seqüência de reações durante a extração.

Pequenas quantidades de ácidos aromáticos como o ácido 4-hidroxi benzóico e o 4-hidroxi-3-metoxi cinâmico foram constatadas em todas as amostras (fração E4) também referentes a cutinas e suberinas. A presença de anéis aromáticos com substituintes metoxi está relacionada a unidades remanescentes da cadeia lateral de unidades básicas de lignina (Figura 26).

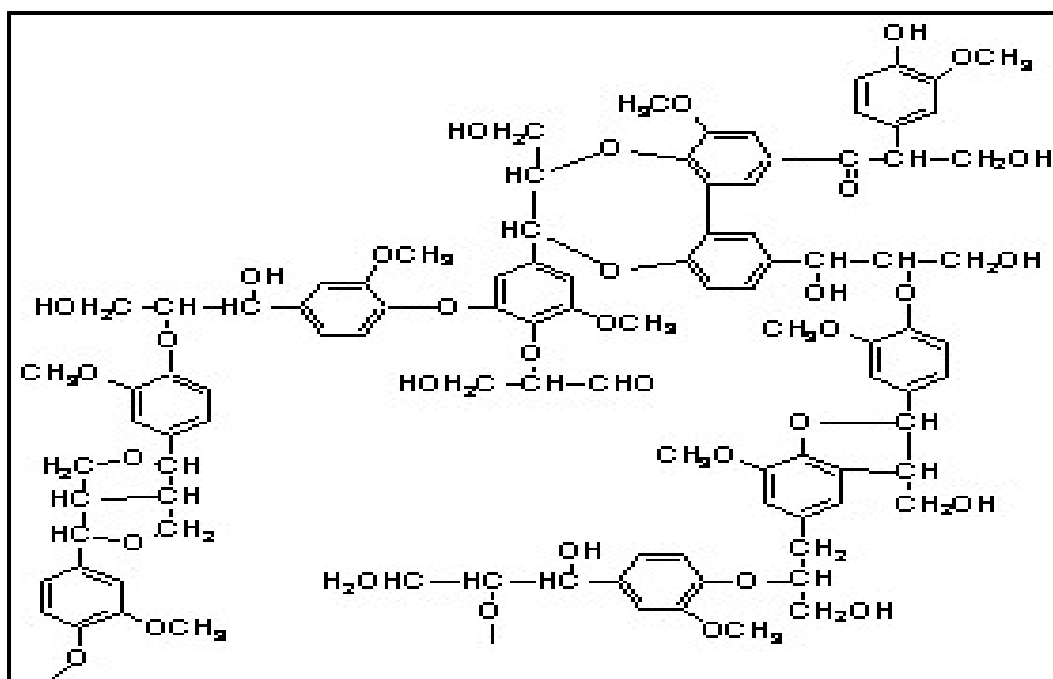
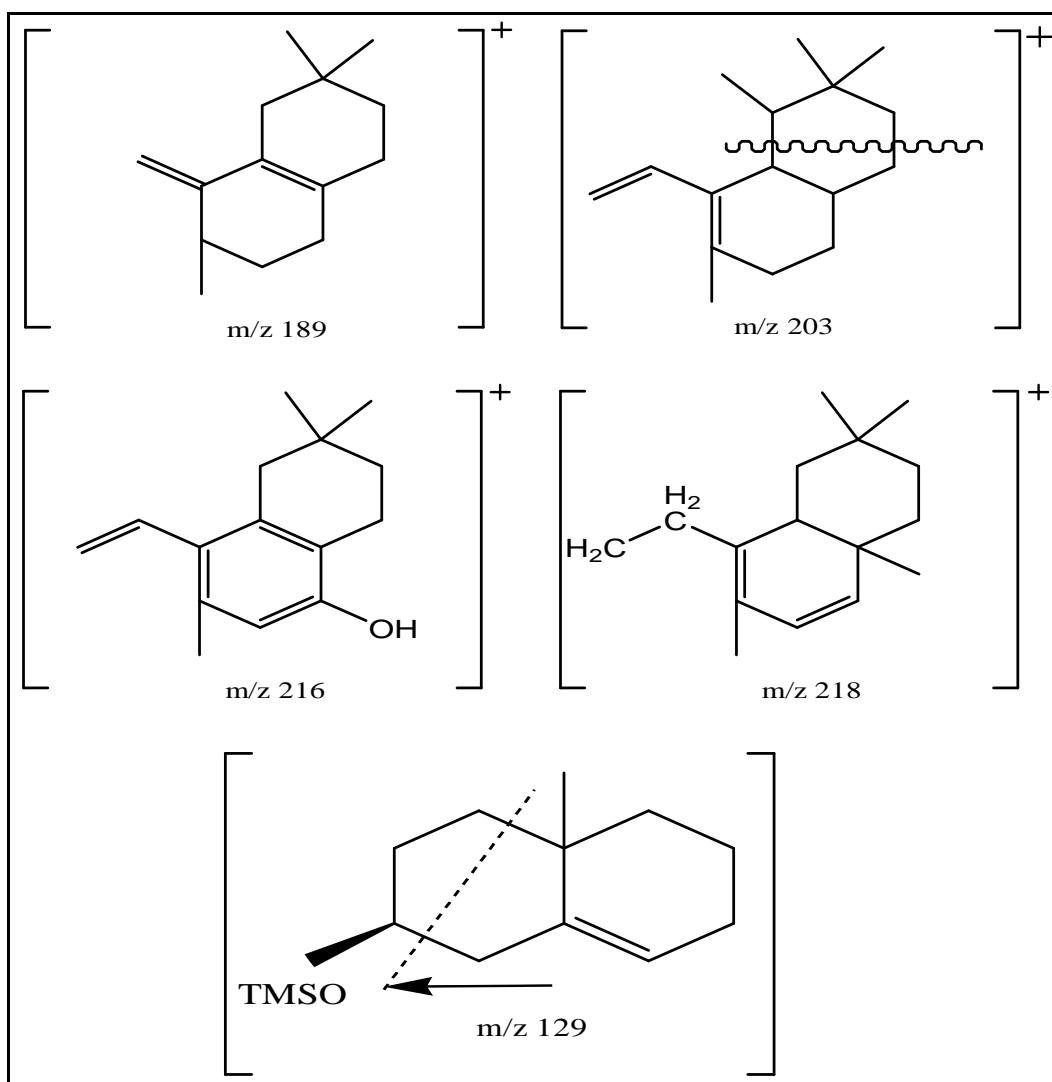


Fig. 26 - Estrutura sugerida da lignina (Brunow, 1998).

#### 6.4.3 Terpenóides e esteróis

Assim como ocorreu na identificação de todos os biomarcadores relatados até agora, realizou-se uma varredura de alguns íons sugeridos pela literatura ( $m/z$  129, 189, 203, 216, 218), isso devido à grande diversidade existente destas classes de compostos (oleananos, ursanos, taraxeranos, lupanos e seus homólogos insaturados). Os íons referentes a estes fragmentos se encontram na Figura 27.



**Fig. 27** - Fragmentos utilizados para identificação de terpenóides e esteróis.

A distribuição dos terpenóides e esteróis variou significativamente entre os sedimentos e as folhas das quatro espécies, sendo registrada a presença destes compostos tanto na fração “livre”, quanto nas “OH e H” lábeis (Tabela 13). Devido a esta diversificação e maior estabilidade em relação a outros biomarcadores frente aos processos diagenéticos, esses compostos são muito utilizados em estudos sobre fontes de MO (Koch *et al.*, 2003).

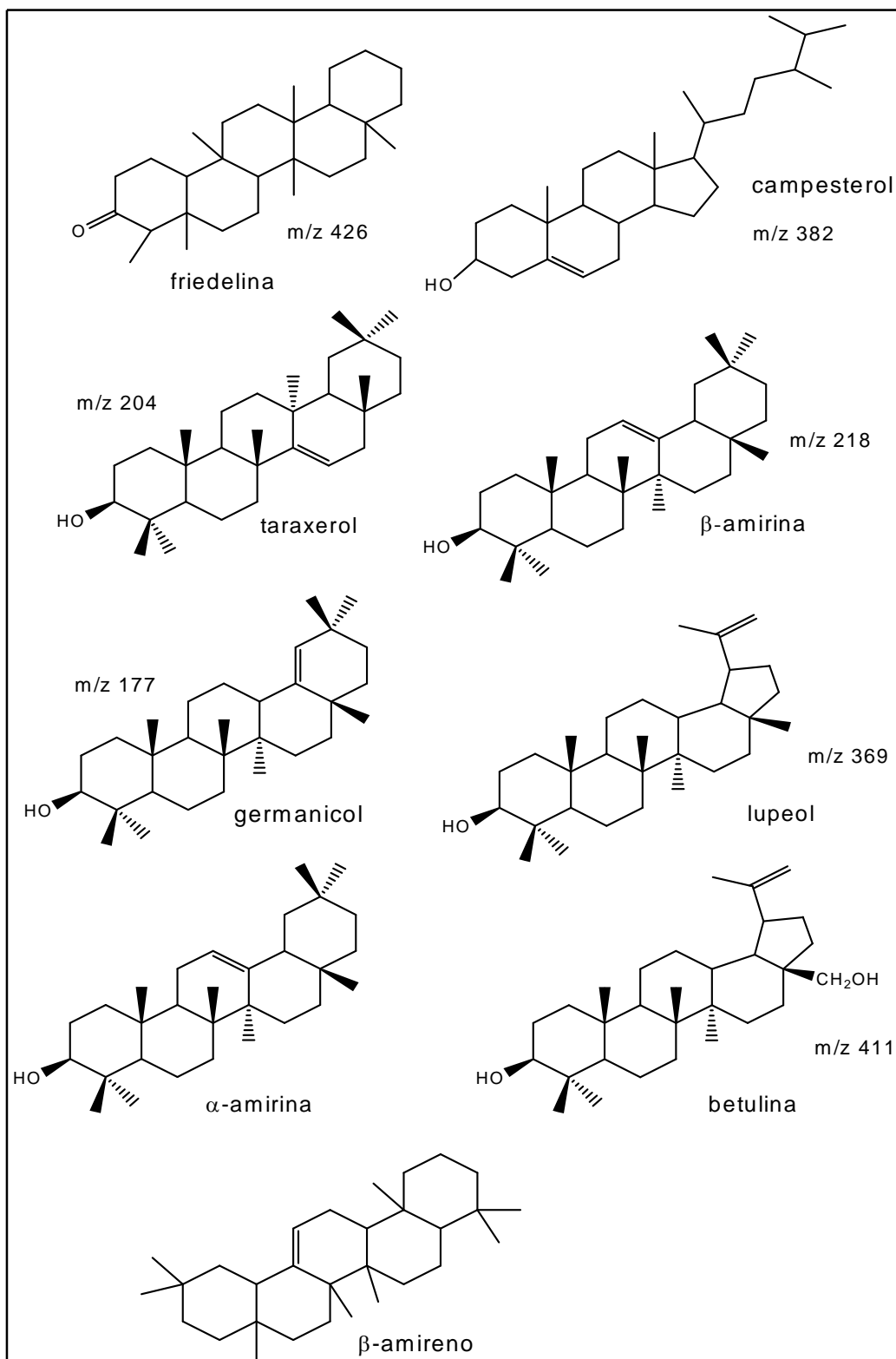
**TAB 13** - DISTRIBUIÇÃO DOS TRITERPENÓIDES PENTACÍCLICOS IDENTIFICADOS NO EXTRATO TOTAL (E1) NAS AMOSTRAS DE SEDIMENTO E PLANTAS

Composto	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ extrato seco)							
	P1	P2	P3	P4	Avic	Lag	Spar	Rhiz
friedelina	2,2	1,4	2,0	1,2	2,2	--	--	--
campesterol	26	15,7	10,7	12	1,3	--	2,1	--
taraxerol	3,9	5,2	13,9	2,2	--	--	--	1,9
$\beta$ -amirina	3,9	8,9	3,3	8,2	90,6	12,4	10,8	38,3
germanicol	17,7	2,4	10,3	3,9	5,7	--	--	--
lupeol	10,8	8,6	2,1	--	11,2	4,7	5,6	--
$\alpha$ -amirina	16,1	16,5	4,9	12,6	5,9	--	8,4	5,1
betulina	15,88	9,7	2,4	4,2	2,3	--	--	--

\*\* (--) NÃO DETECTADO

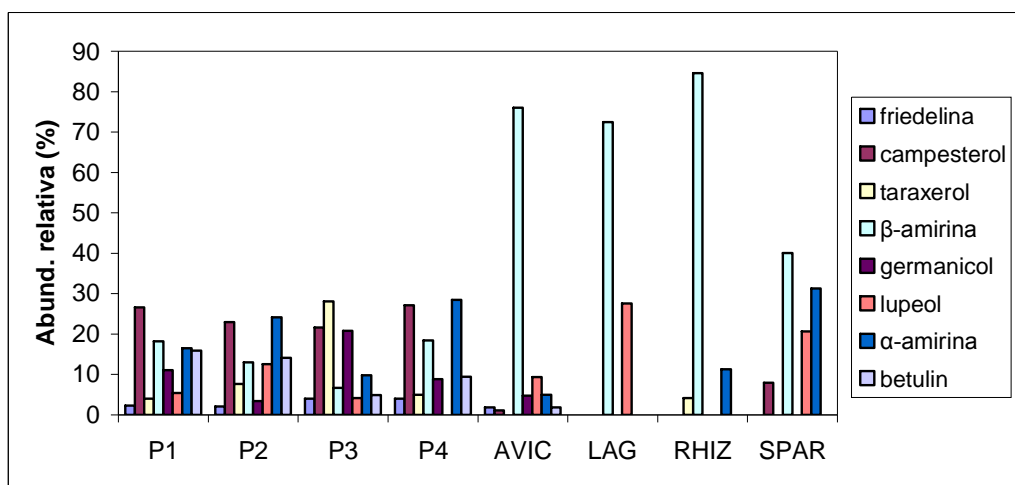
Dentre os terpenos identificados na fração dos lipídios extraíveis (E1) os triterpenos pentacíclicos foram predominantes. Nesta classe incluem: friedelina (D:A- 3 friedoleanona), campesterol (24 $\alpha$ -metil-5-colesteno-3 $\beta$ -ol), germanicol (18-oleaneno-3 $\beta$ -ol), lupeol (20(29)-lupeno-3 $\beta$ -ol), taraxerol (14-taraxereno-3 $\beta$ -ol),  $\alpha$  e  $\beta$ -amirina (12-urseno-3 $\beta$ -ol e 12-oleaneno-3 $\beta$ -ol), e betulina (20(30)-lupeno-3 $\beta$ ,28-diol) (Figura 28). Esses compostos são comuns em plantas superiores e têm sido identificados em ceras cuticulares de folhas de mangue. Portanto para prover conhecimento quanto à relação entre a MO proveniente da interface superfície-água e de plantas se faz necessário monitorar o perfil destes marcadores.

A abundância relativa individual dos triterpenóis pentacíclicos está demonstrada na Figura 29. Todas as amostras de sedimento continham quantidades significantes de campesterol,  $\alpha$  e  $\beta$ -amirina. Enquanto que taraxerol foi predominante em P3, grandes percentagens de lupeol e betulina foram detectadas em P1 e P2. Em P3 também foi detectada grande percentagem relativa de germanicol. Já para as espécies de mangue a  $\beta$ -amirina foi o composto que predominou alcançando valores máximos em *Avicennia* e *Rhizophora*. Entre as amostras de plantas taraxerol foi encontrado apenas em *Rhizophora*, resultado concordante com Koch *et al.* (2003), sendo portanto um biomarcador para esta espécie de mangue.



**Fig. 28** - Estruturas e valores dos fragmentos chaves utilizados na identificação dos triterpenóis pentacíclicos.

Da mesma forma friedelina, germanicol e betulina foram eleitos marcadores químicos para material derivado da *Avicennia*. Portanto a presença destes compostos nos sedimentos superficiais do manguezal do Itacorubi refere-se ao processo de “litter fall”, ou seja, da decomposição das folhas destas espécies do mangue e a incorporação destes na MO sedimentar.



**Fig. 29** - Abundância relativa dos oito triterpenos pentacíclicos monitorados no extrato total (E1) nas amostras de sedimentos e folhas de plantas coletadas no manguezal do Itacorubi.

Os esteróis  $C_{27}$  e  $C_{28}$  refletem a contribuição do aporte de algas na MO. Em contraste, embora também presentes em algumas algas, os compostos  $C_{29}$  são característicos de plantas vasculares. Os fitoesteróis ( $C_{29}$ ) nas plantas foram:  $\beta$ -sitosterol  $C_{29}\Delta^5$  (24-etil-5-colesteno-3 $\beta$ -ol),  $\gamma$ -sitosterol (24 $\beta$ -etil-5-colesteno-3 $\beta$ -ol) e estigmasterol  $C_{29}\Delta^{5,22}$  (24-etil-5,22-colestadieno-3 $\beta$ -ol). Estes compostos apresentaram-se em abundância nas folhas das plantas, sendo também detectados nos sedimentos.

Além destes, esteróis  $C_{27}$  como: colesterol  $C_{27}\Delta^5$  (5-colesteno-3 $\beta$ -ol), epicoprostanol (3 $\alpha$ -5 $\beta$ -colestano-3-ol), 5 $\alpha$ -8-colesteno-3-ona, 24-etilcoprostanol, coprostanol (3 $\beta$ -5 $\beta$ -colestano-3-ol) também foram identificados nas amostras de sedimento. A Tabela 14 descreve as concentrações individuais destes esteróis.

**TAB. 14** - CONCENTRAÇÃO INDIVIDUAL DE ESTERÓIS IDENTIFICADOS NO EXTRATO TOTAL (E1) DE AMOSTRAS DE PLANTAS E SEDIMENTOS NO MANGUEZAL DO ITACORUBI

Composto	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ extrato seco)							
	P1	P2	P3	P4	Avic	Lag	Spar	Rhiz
$\beta$ -sitosterol	7,4	5,1	23,9	3,0	33,5	15,0	29,7	9,6
$\gamma$ -sitosterol	20,2	7,4	9,6	4,5	5,8	5,4	1,0	4,5
estigmasterol	4,1	6,7	10,7	1,0	8,8	5,1	5,8	5,0
colesterol	3,5	2,7	13,4	0,8	--	--	--	--
epicoprostanol	7,7	12,0	6,9	4,4	--	--	--	--
coprostanol	10,7	11,1	6,6	1,9	--	--	--	--
5 $\alpha$ -8-colesteno-3-ona	3,0	5,9	15,4	5,0	--	--	--	--
24-etilcoprostanol	11,3	16,6	2,2	5,5	--	--	--	--

\*\* ( -- ) NÃO DETECTADO

Dentre os fitoesteróis, o  $\beta$ -sitosterol predominou em todas as espécies de mangue (variando entre 9,6 e 33,5  $\mu\text{g g}^{-1}$  extrato seco), estando presente também em grande quantidade nos sedimentos, principalmente em P3 (23,9  $\mu\text{g g}^{-1}$  extrato seco). Entretanto no extrato da MO sedimentar ocorreu um predomínio dos esteróis  $C_{27}$  apresentando valores de 50,1 a 71,6% dos esteróis totais.

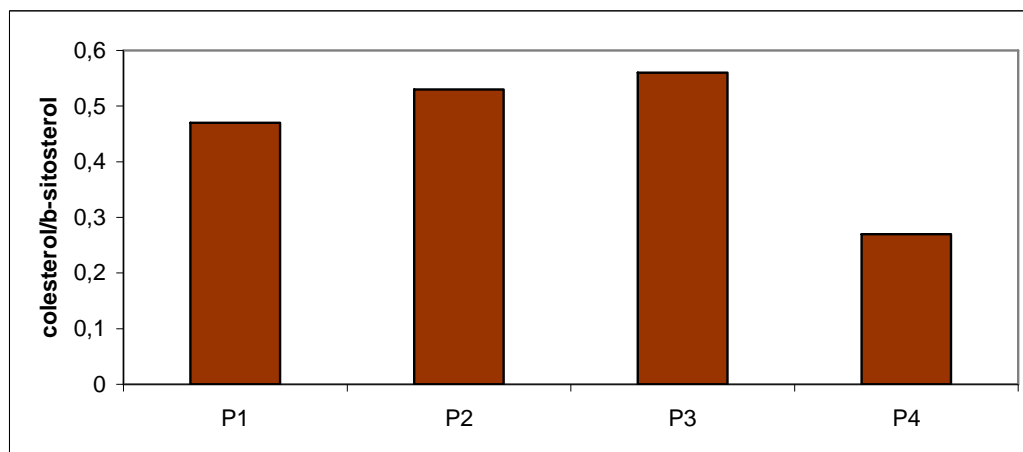
Os esteróis  $C_{27}$  relacionados são todos utilizados como indicadores de poluição fecal. A presença destes nas amostras de sedimento era esperada uma vez que o manguezal foi utilizado como aterro sanitário por vários anos, recebendo ainda hoje grande descarga de esgoto doméstico.

Embora as concentrações de colesterol sejam inferiores em relação aos demais esteróis  $C_{27}$ , fica evidente a contaminação por esgoto, uma vez que os demais compostos são subprodutos de sua alteração microbiana.

As concentrações de coprostanol alcançaram valores superiores a 9  $\mu\text{g g}^{-1}$  característico de ambientes sedimentares altamente contaminados com esgoto (Nichols & Leeming, 1991).

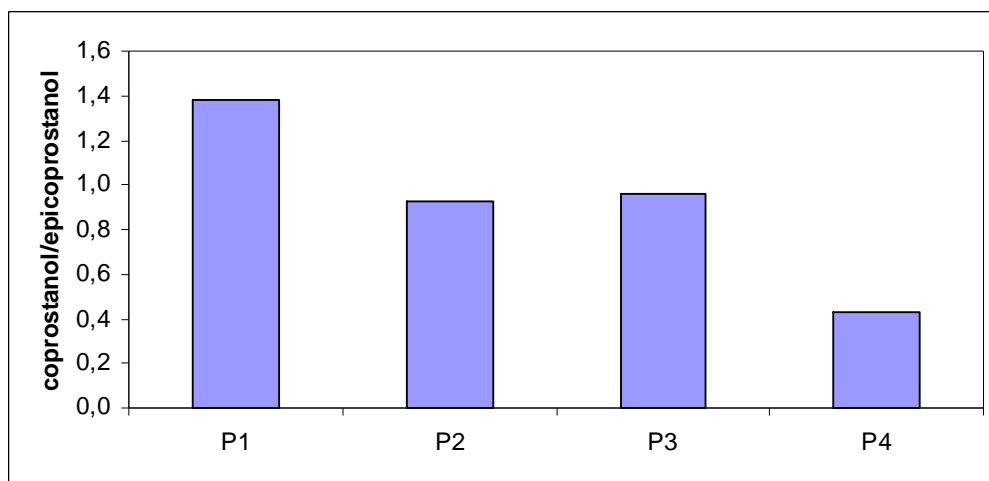
Uma forma de determinar o impacto sobre o ambiente por efluente doméstico é a razão de esteróis ( $C_{27}$ - $C_{29}$ ). Para isto foram calculadas as razões de colesterol/ $\beta$ -sitosterol, coprostanol/epicoprostanol, coprostanol + epicoprostanol/esteróis totais (%), sugeridas por Green *et al.* (1992).





**Fig. 30** - Razão colesterol/ $\beta$ -sitosterol obtida das amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi.

Através dos valores obtidos de colesterol/ $\beta$ -sitosterol entre 0,27 e 0,56 (Figura 30) a informação seria de que não haveria aporte antropogênico neste meio, contudo esta informação não é suficiente. Entretanto estes resultados não são condizentes com as percentagens de  $C_{27}$  presentes no sedimento. O nível de esteróis  $C_{27}$  sugere a contaminação do meio, portanto sendo necessário a comparação destes resultados com outros índices.

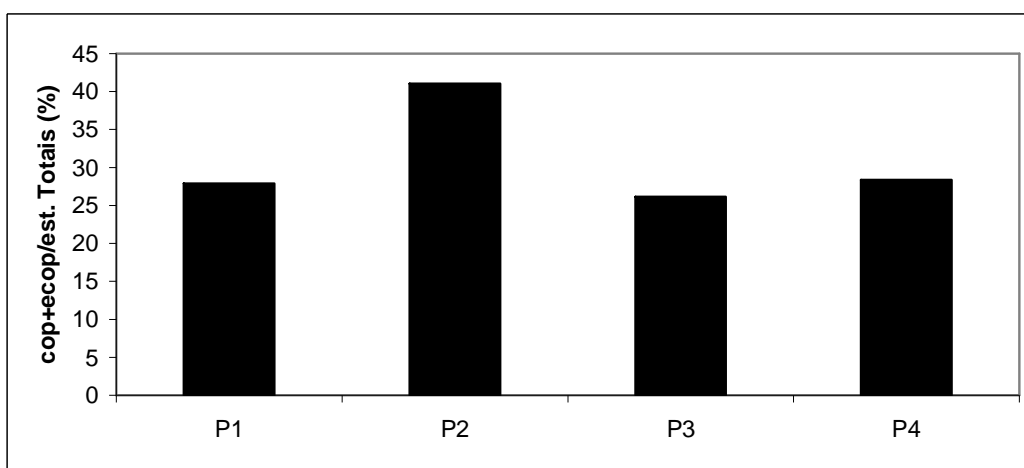


**Fig. 31** - Razão coprostanol/epicoprostanol obtida das amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi.

Valores de coprostanol/epicoprostanol próximos a 1,5 (Figura 31) são apenas sugestivos quanto à contaminação por esgoto doméstico, uma vez que estes compostos também podem ser excretados por outros mamíferos. Em que

pese esta hipótese está descartada, sendo mais provável a contaminação por esgoto, visto que o manguezal se localiza próximo de um aterro sanitário.

Para confirmar a intensidade do impacto no local por efluentes domésticos, utilizou-se também a razão coprostanol + epicoprostanol/esteróis totais (%) (Figura 32). Valores entre 26% (P3) e 41% (P2), são comparados aos obtidos em estudos nos canais de Veneza, Itália, onde foram observados valores entre 32 e 44% (Sherwin *et al.*, 1993).



**Fig. 32** - Razão coprostanol + epicoprostanol/esteróis totais (%) obtida das amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi.

### 6.5 Análise quimiométrica multivariada

Para este estudo foram realizadas as análises de PCA e HCA utilizando-se como parâmetro a altura dos picos cromatográficos de alguns compostos selecionados nas amostras de sedimentos e folhas. Foram escolhidos aqueles cujos precursores seriam provenientes apenas das plantas aqui estudadas. Desta forma os compostos utilizados nesta correlação estão apresentados na Tabela 15 com os respectivos valores das alturas dos sinais cromatográficos.

Aplicada a PCA nos dados relacionados, chegou-se a conclusão de que seriam necessárias apenas 02 componentes (PCs) resultando num total de 72% de significância entre CP1xCP2, onde CP1=46,14% e CP2 = 25,7% (Tabela 16).

**TAB. 15** - COMPOSTOS UTILIZADOS NA ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA MULTIVARIADA E AS RESPECTIVAS ALTURAS DOS SINAIS CROMATOGRÁFICOS

	P1E1	P2E1	P3E1	P4E1	AVIC_E1	SPAR_E1	LAG_E1	RHIZ_E1
ac. n-C <sub>16</sub>	159238574	30866	9238091	2,95E+08	1,01E+09	8,94E+08	7,76E+08	1,03E+09
ac. n-C <sub>17</sub>	0	709056	9601315	18446957	0	0	0	5761319
ac. n-C <sub>18</sub>	79697719	9160158	7784137	3,22E+08	1,7E+08	1,54E+09	5,85E+08	1,56E+09
hidroc. n-C <sub>23</sub>	31228637	372393	3346809	7793224	11183606	281062	0	4444076
acido n-C <sub>20</sub>	29003348	941780	3397968	11684804	95695402	50659155	26725406	28238260
hidroc. n-C <sub>24</sub>	9497141	326865	3015757	2921074	20939254	3187275	0	0
hidroc. n-C <sub>25</sub>	48113335	1102601	3627638	9013649	34450619	9786940	4250336	28004907
ac. n-C <sub>22</sub>	27581057	871262	6335115	11469582	65859344	21762776	34735267	29035208
hidroc. n-C <sub>26</sub>	7160805	178229	7071564	928284	8487779	11041602	0	25409432
ac. n-C <sub>23</sub>	5184443	107066	13173854	837732	26450467	10597097	14518817	21470294
hidroc. n-C <sub>27</sub>	20078764	626082	5297522	6220624	85806187	4860604	26097429	34016057
ac. n-C <sub>24</sub>	45342749	1397878	3000625	3002998	45564420	28708359	27178280	21497911
hidroc. n-C <sub>28</sub>	9180023	0	6340692	5117371	30225986	1785006	10671066	19258427
ac. n-C <sub>25</sub>	13804754	143323	1415730	3538553	0	0	7330654	4673883
hidroc. n-C <sub>29</sub>	29945745	1408131	9798484	9527146	1,24E+08	6101273	79940639	35206113
ac. n-C <sub>26</sub>	0	0	0	0	77135274	3043173	13876187	88450163
α-amirina	84444250	4150420	11074461	30190831	68109081	41552586	0	41767058
β-amirina	93115408	2238370	7585503	19581834	1,04E+09	53265012	59997346	78749901
β-sitosterol	38778031	1281365	54583221	7235109	1,01E+08	1,47E+08	72553256	3,13E+08
betulina	81306193	2435277	5529759	9990039	25947794	0	0	0
campesterol	136272651	3949433	24485336	28813310	14768488	10558823	0	0
estigmasterol	56310773	2776856	15044825	8295579	0	28689306	24536864	0
friedelina	11784025	355667	4552118	2916100	25553153	0	0	0
γ-sitosterol	105809552	4047355	21901410	10669083	66647815	5155160	26300743	36670347
germanicol	56858100	593907	23531545	9388854	65282802	0	0	0
lupeol	27835954	2163492	4682758	0	1,29E+08	27494547	22814652	0
taraxerol	20503918	1315152	31808833	5258747	0	0	0	15288698

\*\* OS VALORES CONSIDERADOS COMO ZERO SÃO CONSIDERADOS COMO COMPOSTOS AUSENTES E/OU QUE ESTEJAM ABAIXO DO LIMITE DE DETECÇÃO DO INSTRUMENTO

**TAB. 16** - % DE SIGNIFICÂNCIA DAS COMPONENTES PRINCIPAIS

Componentes Principais			
	Valores de peso	% Total	Acumulativo
1	12.45865	46.14316	12.45865
2	6.92692	25.65528	19.38558
3	3.52658	13.06141	22.91216
4	1.92840	7.14222	24.84056
5	0.97176	3.59911	25.81232

A visualização do histograma na Figura 33, contendo as distâncias Euclidianas entre as amostras, indica a similaridade da composição entre estas. Observamos que os compostos que apresentam maiores distâncias Euclidianas são os que apresentam maior similaridade entre as amostras, sendo eles: β-amirina, β-sitosterol, nonacosano e ácidos hexadecanóico e octadecanóico.

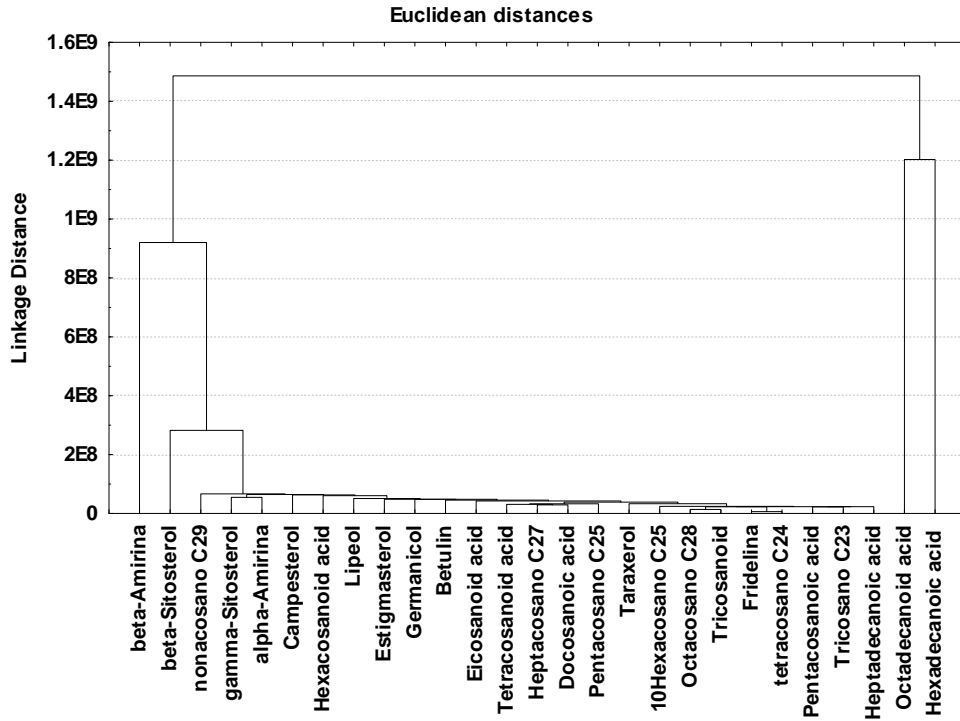


Fig. 33 - Dendrograma com distâncias Euclidianas entre os biomarcadores identificados.

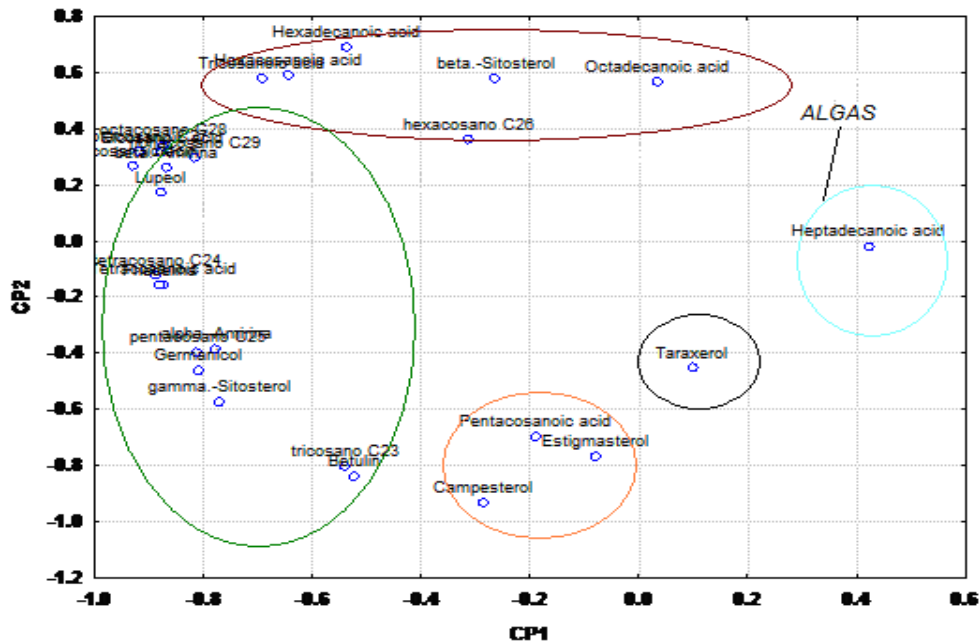


Fig. 34 - Gráfico de scores de correlação entre CP1 x CP2.

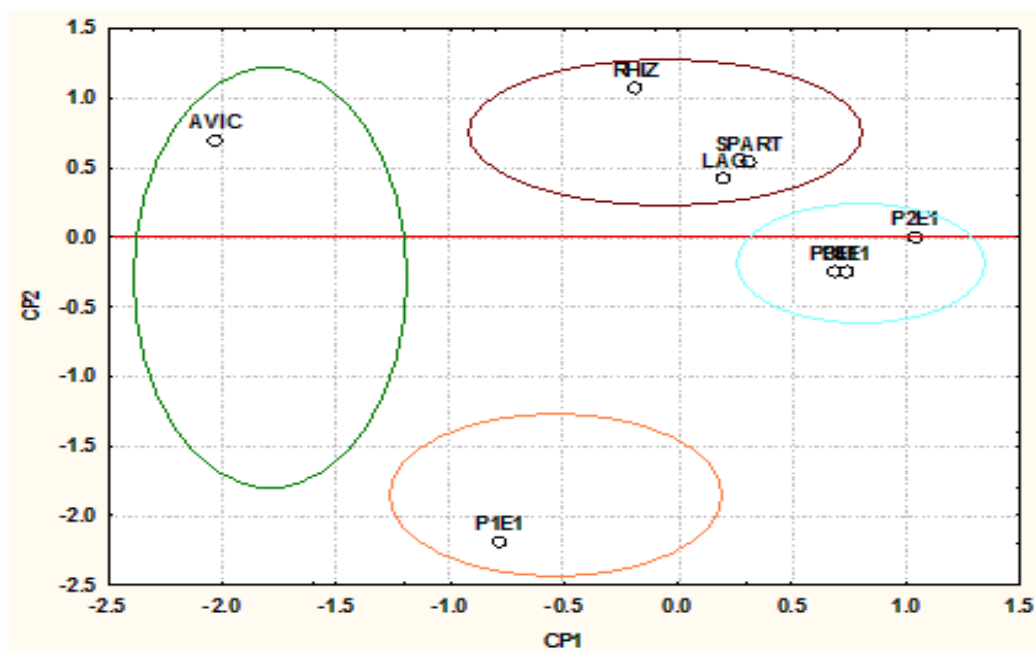


Fig. 35 - Gráfico de *loadings* de correlação entre CP1 x CP2.

Através da visualização dos dados obtidos entre gráficos de *scores* e *loadings* podemos correlacionar os dados obtidos com as amostras (Figuras 34 e 35).

Observando os gráficos de *scores* e *loadings* pode-se observar que a *Spartina* é a planta estudada que tem a maior contribuição na MO sedimentar nas concentrações dos ácidos hexadecanóico e octadecanóico, concordante com a análise univariada (dados das Tabelas de composição). Estatisticamente as concentrações de  $\beta$ -sitosterol não variam significativamente entre as plantas.

A localização da amostra *Avicennia* à esquerda no gráfico de *loadings* está relacionada aos compostos que se apresentam à esquerda do gráfico de *scores*. Quanto mais à esquerda, maiores são as concentrações destes. Assim estão relacionados à sua composição: friedelina,  $\beta$ -amirina, germanicol, betulina, lupeol,  $\alpha$ -amirina e hidrocarboneto C<sub>29</sub>. Conforme estes compostos se deslocam para a direita, menores concentrações destes são registradas para a *Avicennia*. O mesmo comportamento cabe às demais amostras. Esta informação também é conclusiva com a análise univariada, sendo portanto a *Avicennia* a maior contribuinte destes compostos na fração lipídica sedimentada, concordante com o grande número desta espécie de mangue existente no manguezal do Itacorubi.

Confirma-se ainda a presença do biomarcador taraxerol para a *Rhizophora*, sendo a maior concentração identificada em P3E1, conforme já citado anteriormente. O ácido heptadecanóico apresenta-se no lado direito do gráfico de *scores*, posição correspondente a 3 amostras de sedimentos (P2E1, P3E1 e P4E1 no gráfico de *loadings*). Entretanto este composto não faz correlação estatística com nenhuma das espécies de mangue, conforme pode ser observado pelos gráficos. Isto ocorre por este composto ser um biomarcador típico de algas. Ainda através dos gráficos pode-se confirmar que o ácido pentacosanóico, o estigmasterol e o campesterol têm suas concentrações identificadas em P1E1 correlacionadas à *Avicennia*, resultado em concordância com as Tabelas apresentadas.

Avaliando a Figura 36 na qual as amostras estão plotadas em um histograma, observa-se o nível de similaridade entre as mesmas. Pode-se observar através deste histograma que dentre as espécies de mangue, *Rhizophora* e *Spartina* são as que apresentam o maior nível de similaridade e entre as amostras de sedimento as de maior similaridade são P3E1 e P2E1.

*Avicennia* e *Laguncularia* formam uma classe distinta por não terem similaridade entre si, e com menor semelhança em relação às demais. A similaridade entre *Rhizophora* e *Spartina* pode ser estabelecida pelas altas concentrações de  $\alpha$ -amirina e ácido octadecanóico, representando as maiores contribuições individuais dentre as espécies de mangue para as amostras de sedimento. Os compostos friedelina, germanicol e betulina identificados apenas na *Avicennia* são a razão da menor similaridade apresentada, conseqüentemente esta não se correlaciona significativamente com as demais espécies. O mesmo é verificado para *Laguncularia* que se caracteriza por apresentar alta concentração de nonacosano (n-C<sub>29</sub>) e concentrações menores dos demais hidrocarbonetos analisados, diferencial que a torna uma classe separada no histograma.

Apesar de serem classificadas de forma a ocorrer uma separação entre as classes, todas apresentam um mínimo de similaridade entre si atribuída aos compostos comumente encontrados nestas espécies.

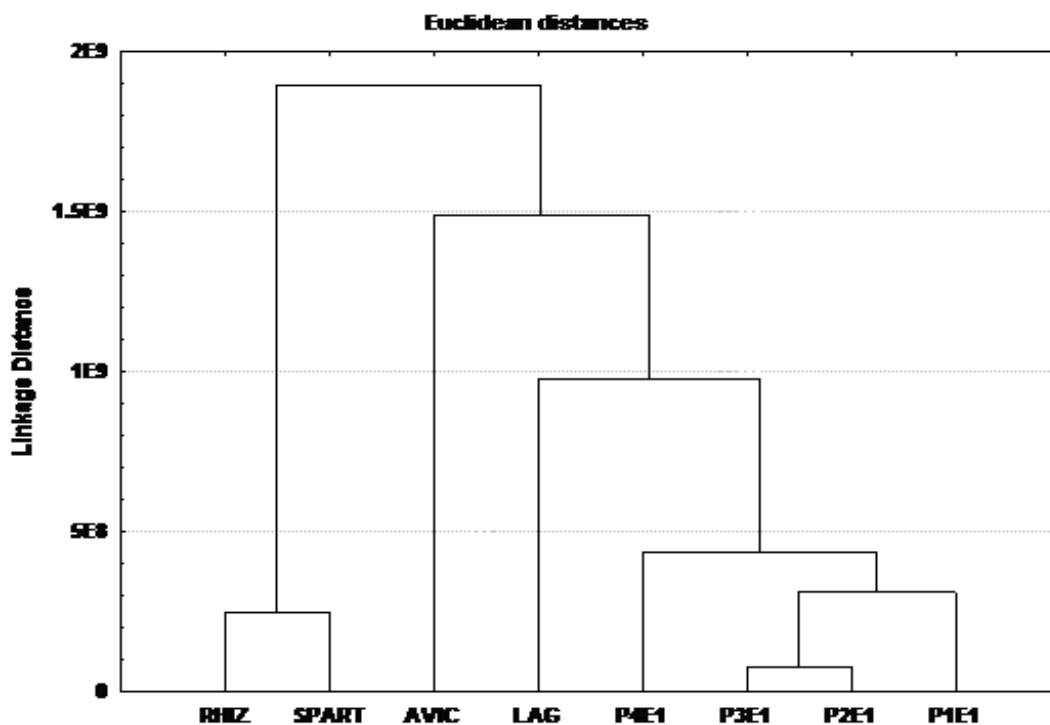


Fig. 36 - Histograma de similaridade entre as amostras.

Dentre as amostras de sedimento o histograma separa estas em 3 classes distintas (Figura 36). P4E1 representa a classe com menor similaridade, seguida por P1E1 também separada no histograma. A outra classe se refere à maior similaridade registrada entre P2E1 e P3E1. Esta similaridade entre P2 e P3 se deve ao fato de que estas amostras são aquelas que foram coletadas em local seco (expostas ao ar) e, portanto próximas às espécies de mangue aqui avaliadas. Com isso apresentam as mesmas condições de preservação para os biomarcadores e o mesmo aporte proveniente destas plantas. Já o mesmo não ocorre para os pontos P4 e P1 (coletados submersos) por serem provenientes de locais de processos dinâmicos de sedimentação (efeito das marés), motivo pelo qual apresentam um perfil de MO sedimentar diferente das demais amostras de sedimento estudadas.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Análises qualitativas e semi-quantitativas foram realizadas a fim de identificar biomarcadores lipídicos em diferentes frações (livres, “OH lábeis” e “H lábeis”) obtidas através de tratamentos seqüenciais, de amostras de sedimentos e plantas do manguezal do Itacorubi. A realização do estudo geoquímico da MO sedimentar em concomitância com a avaliação lipídica das folhas de mangue nos forneceu conhecimento para a distinção entre as possíveis fontes biogênica e/ou antropogênica, sendo esta última responsável pela contaminação do meio. A avaliação da composição lipídica das plantas reforçou os dados da literatura, confirmando que o maior contribuinte da MO sedimentar são os detritos de plantas deste ecossistema.

As análises granulométricas foram imprescindíveis para a complementação dos dados sobre o processo de deposição de partículas sedimentares e a preservação dos biomarcadores neste ambiente.

Análises elementares (C, H, N) deram um indicativo do avançado estágio de degradação da MO confirmando um aporte misto de contribuições terrestres e aquáticas com forte influência de bactérias na decomposição dos detritos de plantas.

As medidas de potencial redox (Eh) foram de suma importância para a classificação do meio. A caracterização do ambiente como altamente reduzido esteve de acordo com as análises elementares e a identificação de alguns biomarcadores, que indicaram uma intensa atividade microbiana no sedimento.

A distribuição relativa dos hidrocarbonetos nas amostras dos sedimentos foi semelhante à encontrada nas folhas das plantas do manguezal. A não identificação dos alcanos de cadeias curtas característicos de fitoplâncton (< C<sub>24</sub>), principalmente C<sub>17</sub> e C<sub>19</sub>, deve-se ao fato de que são preferencialmente removidos durante os processos de decomposição, não ignorando, portanto o possível aporte destes. O índice IPC, e a razão pristano/fitano indicaram não haver contaminação do ambiente por combustíveis fósseis.

O estudo de ácidos carboxílicos revelou que esta classe de compostos é uma importante ferramenta em geoquímica. A presença destes em todas as frações (livres, “OH lábeis” e “H lábeis”) demonstra o poder de preservação destes frente aos processos diagenéticos. O perfil dos ácidos identificados



também confirmou o aporte de algas e bactérias, dando informações que possibilitam identificar as possíveis espécies precursoras.

A monitoração de triterpenóides pentacíclicos nas amostras foi essencial para inferir a contribuição de cada espécie de planta do manguezal na MO. Através desta pode-se eleger o taraxerol como biomarcador para a *Rhizophora*, resultado concordante com Koch *et al.* (2003), da mesma forma friedelina, germanicol e betulina foram eleitos marcadores químicos para material derivado da *Avicennia* no manguezal do Itacorubi.

Este estudo ainda possibilitou através dos esteróis identificados nas amostras avaliar a impactação do meio por efluentes domésticos. O uso da razão de esteróis biomarcadores C<sub>27</sub> e C<sub>29</sub> como colesterol/ $\beta$ -sitosterol, coprostanol/epicoprostanol, coprostanol + epicoprostanol/esteróis totais evidenciaram a contaminação do manguezal por esgoto doméstico.

A utilização de métodos estatísticos de análises multivariadas através da quimiometria ofereceu uma melhor correlação entre a composição lipídica encontrada nas folhas das plantas e a encontrada no sedimento. Através destas análises foi possível verificar a importância das espécies de mangue na MO sedimentar e ainda a diferença na composição orgânica das amostras de sedimento coletados em pontos sob condições diferentes de sedimentação.

A realização deste trabalho será de fundamental importância como dados pretéritos para pesquisas futuras de monitoramento e avaliação ambiental neste ecossistema.

## 8 BIBLIOGRAFIA

1. ARANA, L.V. *Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura*. Segunda edição revisada e ampliada, Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.
2. BERNER, R.A. The rise of plants and their effect on weathering and atmospheric CO<sub>2</sub>. *Science*, (1992) **276** : 544-546.
3. BERNER, R.A. Weathering, plants and the long term-carbon cycle. *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1997) **56** : 3225-3231.
4. BÍCEGO, M.C.; WEBER, R.R., ITO, R.G. Hydrocarbons in surface sediments of Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Pesq. Antart. Bras.*, (1996) **3** : 15-21.
5. BLUMER, M.; MULLIN, M.M., THOMAS, D.W. Pristane in zooplankton. *Science*, (1963) **140** : 974.
6. BORDOVSKIY, O.K. Sources of organic matter in marine basins. *Mar. Geol.*, (1965) **3** : 5-31.
7. BOURBONNIERE, R.A., MEYERS, P.A. Sedimentary geolipid records of historical changes in the watersheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. *Limnology Oceanographic*, (1996) **4** (2) : 352-359.
8. BOWDEN, W.B. Nitrogen and Phosphorus in the Sediments of a Tidal, Freshwater Marsh in Massachusetts. *Estuaries*, (1984) **7** (2) : 108-118.
9. BRAY, E.E., EVANS, E.D. Distribution of *n*-paraffins as a clue to recognition of source beds. *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1961) **22** : 2-15.
10. BRESCIANI, L.F.V. *Avaliação da Composição Orgânica dos Sedimentos de Fundo da Lagoa da Conceição – Ilha de Santa Catarina – SC*, Universidade Federal de Santa Catarina, Dissertação de mestrado, 1998.
11. BRONDZ, I. Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques – Review. *Anal. Chim. Acta*, (2002) **465** : 1-37.
12. BROOKS, P.W.; EGLINTON, G., GASKELL, S.J.; MCHUGH, D.J.; MAXWELL, J.R., PHILP, R.P. Lipids of Recent Sediments, Part I: Straight chain Hydrocarbons and Carboxylic Acids of some Temperate Lacustrine and Sub-Tropical Lagoonal/Tidal Flat Sediments. *Chem. Geol.*, (1976) **18** : 21-38.

13. BRUNOW, G. Oxidative coupling of phenols and the biosynthesis of lignin. *Lignin and Lignan Biosynthesis*, (1998) 131-147.
14. CALVIN, M. *Chemical Evolution*, Oxford Univ Press, 1969.
15. CARDOSO, J.N., GABARDO, I.T. Geoquímica orgânica aplicada. *Quím. Nova* (1981) 4 (3) : 72-85
16. CRANWELL, P.A. Monocarboxylic acids in lake sediments: Indicators, derived from terrestrial and aquatic biota, of paleoenvironmental trophic levels. *Chem. Geol.*, (1974) 14 : 1-14.
17. DE LEEUW, J. W.; LARGEAU, C.A. review of macromolecular organic compounds that comprise living organisms and their role in kerogen, coal, and petroleum formation. *Org. Geochem. Plenum*, (1993) 23–72.
18. DERENNE, S.; LARGEAU, C.; CASADEVALL, E.; BERKALOFF, C.; ROUSSEAU, B. Chemical evidence of kerogen formation in source rocks and oil shales via selective preservation of thin resistant outer walls of microalgae: origin of ultralaminae. *Geochim. Cosmochim. Acta* (1991) 55 : 1041–1050.
19. DUTRA, S.J. Aspectos morfométricos e da sua utilização humana da Bacia do Córrego Grande, Ilha de Santa Catarina, SC, Brasil. // *Sem. Pesq. UFSC*, 1994.
20. DUTRA, R.L. Desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de zinco (ii) em plasma, eritrócitos e urina de 24 horas por espectrometria de absorção atômica em chama e posterior correlação com atividade física e dislipidemia usando análise quimiométrica. Tese de Doutorado em Química Analítica, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.
21. EGLINTON, G., HAMILTON, R.J. Leaf epicuticular waxes. *Science*, (1967) 156 : 1322-1355.
22. EGLINTON, G., MURPHY, M.T.J. *Organic Geochemistry: Methods and Results*. Springer Verlag, Berlim, 1969.
23. ENSMINGER, A.; ALBRECHT, P., OURISSON, G. Evolution of polycyclic alkanes under the effect of burial (Early Toarcian shales, Paris Basin). *Advances in Organic Geochemistry*, (1977) 45-52.
24. GARCETTE-LEPECQ, A.; LARGEAU, C.; BOULOUBASSI, I.; DERENNE, S.; SALIOT, A.; LORRE, A., POINT, V. Lipids and their modes of

- occurrence in two surface sediments from Danube delta and northwestern Black Sea: implications for sources and early diagenetic alteration I. Carboxylic acids. *Org. Geochem.*, (2004) **35** : 959-980.
25. GOOSSENS, H.; RIJPSTRA, W.I.C.; DÜREN, R.R.; DE LEEUW, J.W., SCHENCK, P.A. Bacterial contribution to sedimentary organic matter; a comparative study of lipid moieties in bacteria and recent sediments. *Org. Geochem.*, (1986) **14** : 15-25.
  26. GOOSSENS, H.; DÜREN, R.R.; DE LEEUW, J.W., SCHENCK, P.A. Lipids and their mode of occurrence in a bacteria and sediments – II Lipids in the sediment of a stratified, freshwater lake. *Org. Geochem.*, (1989) (a) **14** : 27-41.
  27. GOOSSENS, H., DE LEEUW, J.W.; RIJPSTRA, W.I.C.; MEYBURG, G.J., SCHENCK, P.A. Lipids and their mode of occurrence in a bacteria and sediments – I A methodological study of the lipids composition of *Acinetobacter calcoaceticus* LMD 79-41. *Org. Geochem.*, (1989) (b) **14** : 15-25.
  28. GREEN, G.; SKERRAT, J.H.; LEEMING, R., NICHOLS, P.D. Hydrocarbon and coprostanol levels in seawater, sea-ice algae and sediments near Davies Station in Eastern Antarctica: a regional survey and preliminary results for a field fuel spill experiment. *Mar. Pollut. Bull.*, (1992) **25** : 293-302.
  29. GRIMALT, J.O.; FERNANDEZ, J.M.; BAYONA & J. ALBAIGES. Assessment of fecal sterols and ketones as indicator of urban sewage inputs to coastal waters. *Environ. Sci. Technol.*, (1990) **24** : 357-363.
  30. GRIMALT, J.O., OLIVE, J. Source Input elucidation in aquatic systems by factor and principal component analysis of molecular marker data. *Anal. Chim. Acta* (1993) **278** : 159-176.
  31. HEDGES, J.I. Global biogeochemical cycles: progress and problems. *Mar. Chem.*, (1992) **39** : 67-93.
  32. HEDGES, J.I., KEIL R.G. Sedimentary organic matter preservation: an assessment and speculative synthesis. *Mar. Chem.* (1995) **49** : 81–115.
  33. HEDGES, J.I.; KEIL, R.G., BENNER, R. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Org. Geochem.* (1997) **27** : 195–212.

34. HOLSER, W.T.; SCHIDLOWSKI, M.; MACKENZIE, F.T.; MAYNARDJ, B. Biogeochemical cycles of carbon and sulfur. *In Chemical Cycles in the Evolution of the Earth*. (1988) 105–173.
35. KASTING, J. The Carbon Cycle, Climate, and the Long-Term Effects of Fossil Fuel Burning. Consequences: The Nature and Implication of Environmental Change. (1998) **4** (1).
36. 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.*, (1987) **11** : 251-264
37. KILLOPS, S.D., KILLOPS, V.J. An Introduction to Organic Geochemistry, 1ª edição, Editora Longman Scientific Technical, New York, 1993.
38. KJERFVE, B., LACERDA, L.D. Mangroves of Brazil. Conservation and sustainable utilization of forest in Latin America and Africa regions. Part 1 - Latin America. *Society for Mangrove Ecosystems*, (1993) 245-272.
39. KOCH, B.P.; RULLKÖTER, J., LARA, R.J. Evaluation of triterpenols and sterols as organic matter biomarkers in a mangrove ecosystem in northern Brazil. *Wetlands Ecology and Management*, (2003) **11** : 257-263.
40. KUENZLER, E.J. Mangrove swamp systems. in, Coastal Ecological Systems of the United States, I. H.T. Odum, B.J. Copeland, E.A. McMahon (eds.). The Conservation Foundation, Washington, D.C. (1974) 346-371.
41. LACERDA, L.D. Trace metals biogeochemistry and diffuse pollution in mangrove ecosystems. *ISME Mangrove ecosystems occasional papers*, (1998) **2**.
42. LAGO, P.F. Ilha de Santa Catarina: urbanização e manejo. Atas do Colóquio Franco-Brasileiro. In: Gestión de la zone littorale de l'île de Santa Catarina (Brésil), 1997.
43. LAW, R.J., BISCAYA, J.L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) – Problems and progress in sampling, analysis and interpretation. *Mar. Pollut. Bull.*, (1994) **29** : 235-241.
44. MARCHAND, C.; LALLIER-VERGÈS, E., BALTZER, F. The composition of sedimentary organic matter in relation to the dynamic features of a

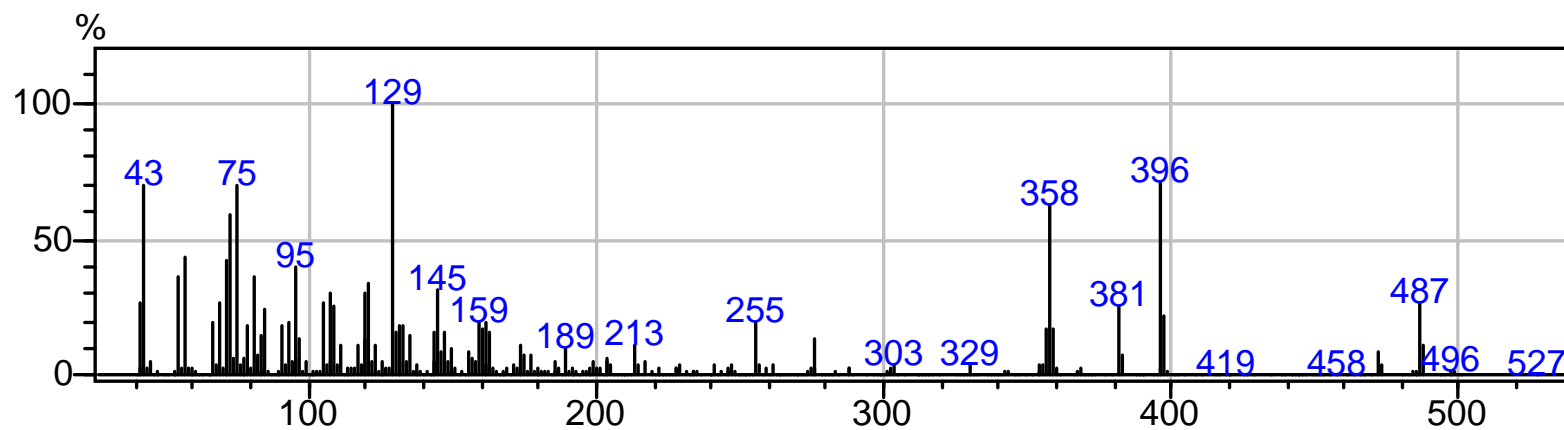
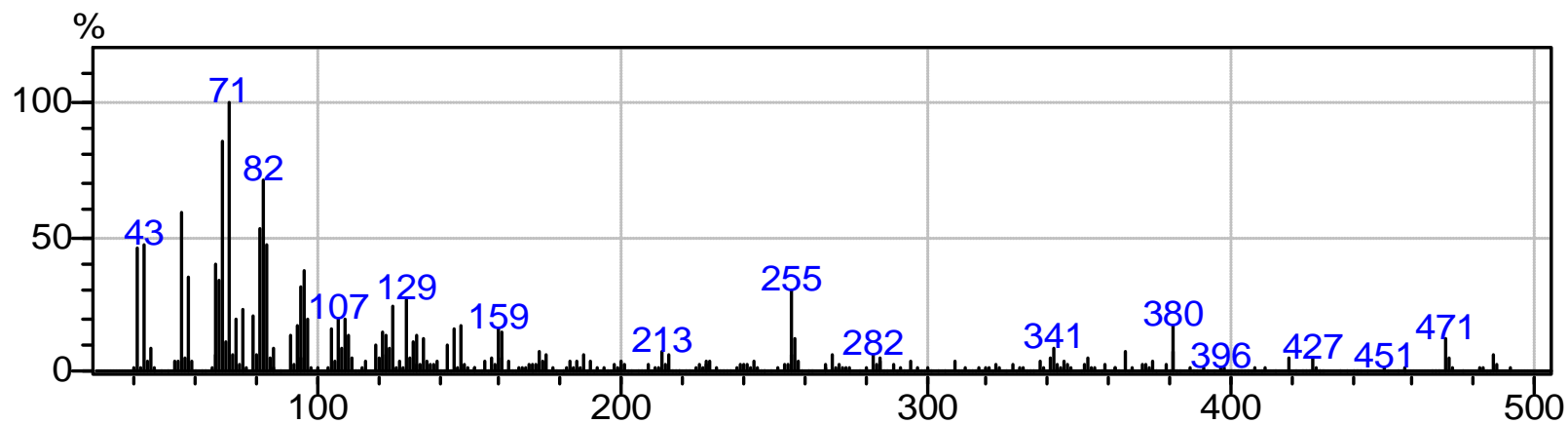
- mangrove-fringed coast in French Guiana. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, (2003) **56** : 119-130.
45. MATSUDA, H. Early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments - III. Changes in fatty acid composition in the sediments from a brackish water lake. *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1978) **42** : 1027-1034.
  46. McCAFFREY, M.A.; FARRINGTON, J.W., REPETA, D.J. The organic geochemistry of Peru margin surface sediments: II. Paleoenvironmental implications of hydrocarbon and alcohol profiles. *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1991) **55** : 483-498.
  47. MEYERS, P.A., ISHIWATARI, R. Lacustrine organic geochemistry – an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Org. Geochem.*, (1993) **20** : 867-900.
  48. NICHOLS, P.D., LEEMING, R. Tracing sewage in the marine environment. *Chem. in Austr.*, (1991) **July** : 274-276.
  49. ODUM, E.P. *Ecologia*, 3ª ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1972.
  50. ODUM, E.P. *Ecologia*, Livraria Pioneira/EDUSP, 1977.
  51. OURISSON G., ALBRECHT, P. Hopanoids: 1. Geohopanoids: the most abundant natural products on Earth? *Acc. Chem. Res.*, (1992) **25** : 398–402.
  52. PETERS, K.E., MOLDOWAN, J.M. The biomarker guide. Interpreting molecular fossils in petroleum and ancient sediments. *Englewood Cliffs* (NJ): Prentice Hall, 1993.
  53. PHILP, R.P. Fossil fuel biomarkers: applications and spectra. *Methods in Geochemistry and Geophysics. Elsevier*, 1985.
  54. PORTO FILHO, E. Sedimentometria e algumas considerações sobre a biogeoquímica dos sedimentos de fundo da Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina. Universidade Federal de Santa Catarina, Dissertação de mestrado, 1993.
  55. ROSSI, M., MATTOS, I.F. O ecossistema mangue: Uma análise dos solos da vegetação no estado de São Paulo. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS. São Paulo, Anais Instituto Florestal, (1992) 930-936.

56. RULLKÖTTER, J. Organic matter: the driving force for early diagenesis. *In Marine Geochemistry*, (1999) 129–172.
57. SANDISON, C.M.; ALEXANDER, R.; KAGI, R.I.; BOREHAM, C.J. Sulfurisation of lipids in a marine-influenced lignite. *Org. Geochem.* (2002) **33** : 1053–1077.
58. SHEPARD, J.P. Nomenclature based on sand-silt-clay ratios. *Journal of Sedimentary Petrology*, (1954) **24** : 151-158,
59. SHERWIN, M.R.; VAN VLEET, E.S.; FOUSSATO, V.U., DOLCH, F. Coprostanol (5 $\beta$ -cholestan-3 $\beta$ -ol) in lagoonal sediments and mussels of Venice, Italy. *Mar. Pollut. Bull.*, (1993) **26** : 501-507.
60. SHRIADAH, M.M.A. Heavy metals in mangrove of the United Arab Emirates shoreline (Arabian Gulf). *Water, Air and Soil Pollut.*, (1998) **116** : 523-534.
61. SIERRA DE LEDO, B., SORIANO-SIERRA, E.J. Contribución para el manejo integrado de sistemas estuarinos y sus recursos em la Isla de Santa Catarina, Brasil. *Inf. Cienc. Mar.*, UNESCO/ROSTLAC, (1988) **47** : 96-100.
62. SIMONEIT, R.T. Diterpenoid compounds and other lipids in deep-sea sediments and their geochemical significance. *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1977) **41** : 463-476.
63. SINNINGHE DAMSTÉ, J. S., DE LEEUW, J.W. Analysis, structure and geochemical significance of organically-bound sulphur in the geosphere: state of the art and future research. *Org. Geochem.*, (1990) **16** : 1077–1101.
64. SORIANO-SIERRA, E.J.; SILVA, J.R.B.M.; DERNER, R.B., BRANCO, J.O. Aspectos ecológicos do Manguezal de Itacorubi, Santa Catarina, Brasil. *Ecologia e gerenciamento do Manguezal do Itacorubi. Série Fepema, Florianópolis*, (1998) **3** : 115-138.
65. SORIANO-SIERRA, E.J. Caracterização ecológica dos biótopos e sua ocupação pelas comunidades vegetais no manguezal do Itacorubi, ilha de Santa Catarina, Brasil. Trabalho apresentado no concurso para Professor Adjunto do Departamento de Biologia da Unversidade Federal de Santa Catarina, 1993.

66. STEINHAEUER, M.S., BOEHM, P.D. The composition and distribution of saturated and aromatic hydrocarbons in nearshore sediments, river sediments, and coastal peat of Alaska Beaufort Sea: implications for detecting anthropogenic hydrocarbons input. *Mar. Envir. Res.*, (1992) **33** : 223-253.
67. SUGUIO, K. Introdução à sedimentologia. Editora Universidade de São Paulo, São Paulo, 1973.
68. TEGELAAR, E.W.; DE LEEUW, J.W.; DERENNE, S.; LARGEAU C. A reappraisal of kerogen formation. *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1989) **53** : 3103–3106.
69. TENORE, K.R. Organic Nitrogen and Caloric Content of Detritus III. Effect on Growth of a Deposit-feeding Polychaete, *Capitella capitata*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, (1983) **17** : 733-742.
70. TISSOT, B.P., WELTE, D.H. Petroleum formation and occurrence. 2.ed. Springer-Verlag, 1984.
71. UNEP. The State of The World Environment. United Nations Environmental Programme, Nairobi, 1991.
72. VENKATESAN, M.I., SANTIAGO, C.A. Sterols in ocean sediments: novel tracers to examine habitats of cetaceans, pinnipeds, penguins and humans. *Mar. Biol.*, (1989) **102** : 431-437.
73. VERNET, J.P.; SPAN, D.; ARBOUILLE, D., HOWA, H. Variation of nutrient stocks in the superficial sediments of Lake Geneva from 1978 to 1988. *Hydrobiologia*, (1990) **207** : 161-166.
74. VOLKMAN, J.K.; JHONS, R.B.; GILLAN, F.T., PERRY, G.Y. Microbial lipids of an intertidal sediment – I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochim. Cosmochim. Acta*, (1980) **44** : 1133-1143.
75. VOLKMAN, J.K.; HOLDWORTH, D.G.; NEILL, G.P.; BAVOR JR., H.J. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *The Science of the Total Environment*, (1992) **112** : 203-219.



## **A N E X O S**

Fig. 1 – Espectro de massas do composto  $\gamma$ -sitosterol.Fig. 2 – Espectro de massas do composto  $\beta$ -sitosterol.

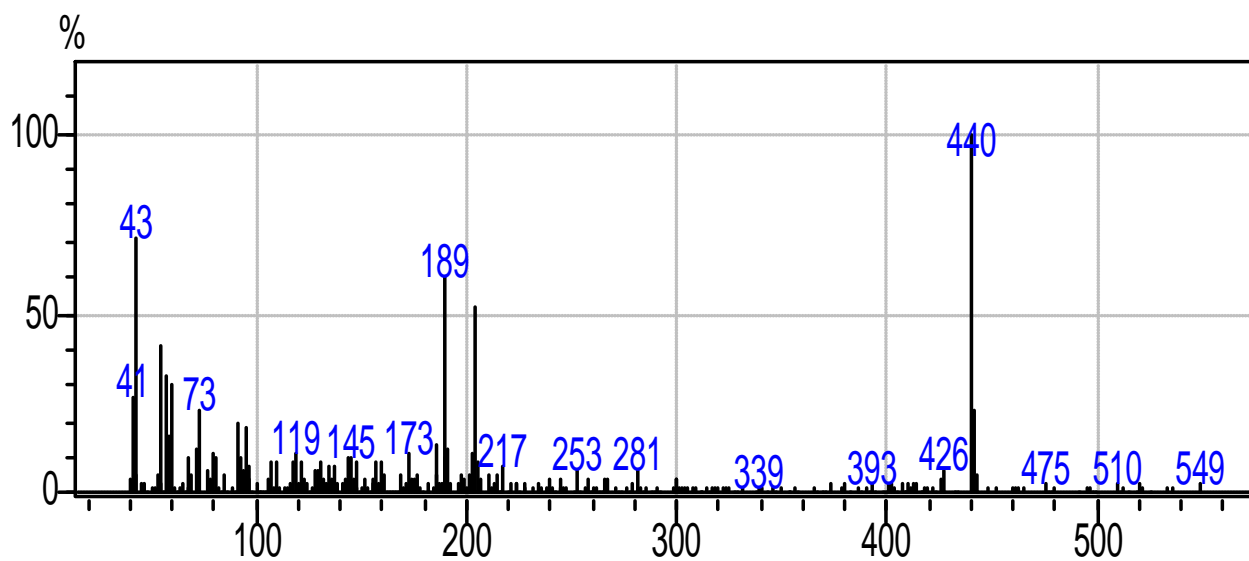


Fig. 3 – Espectro de massas do composto taraxerol.

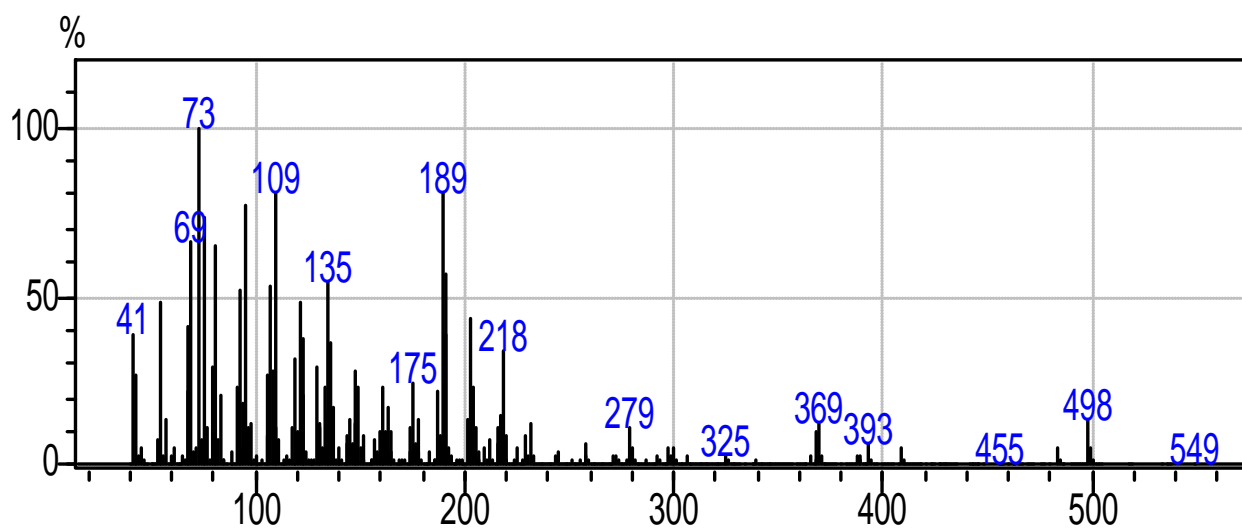


Fig. 4 – Espectro de massas do composto  $\beta$ -amirina trimetilsilil éter.

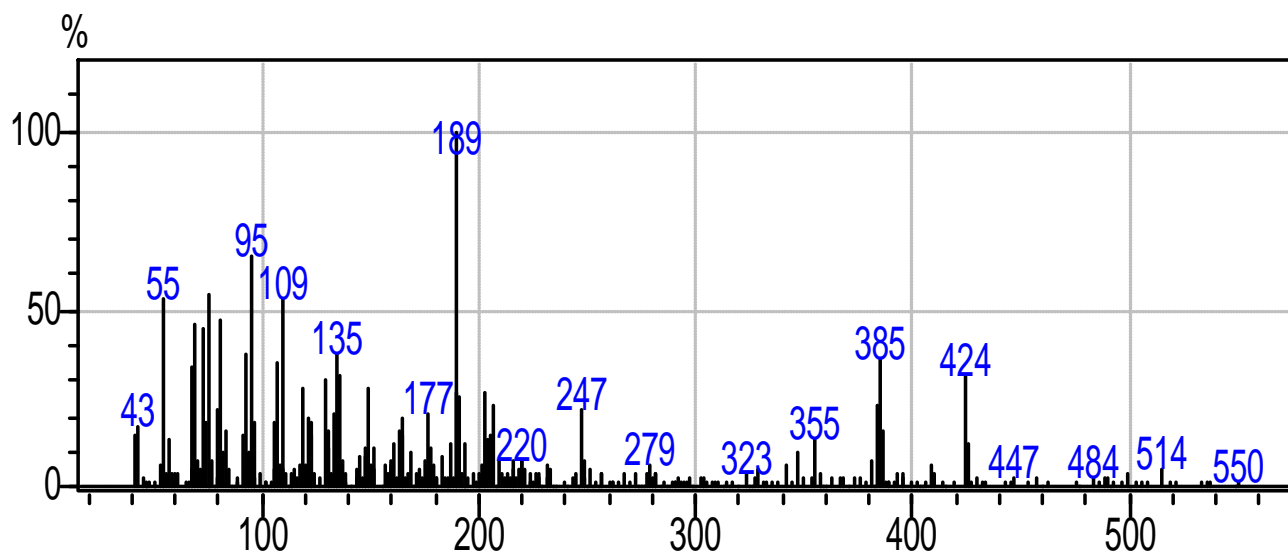
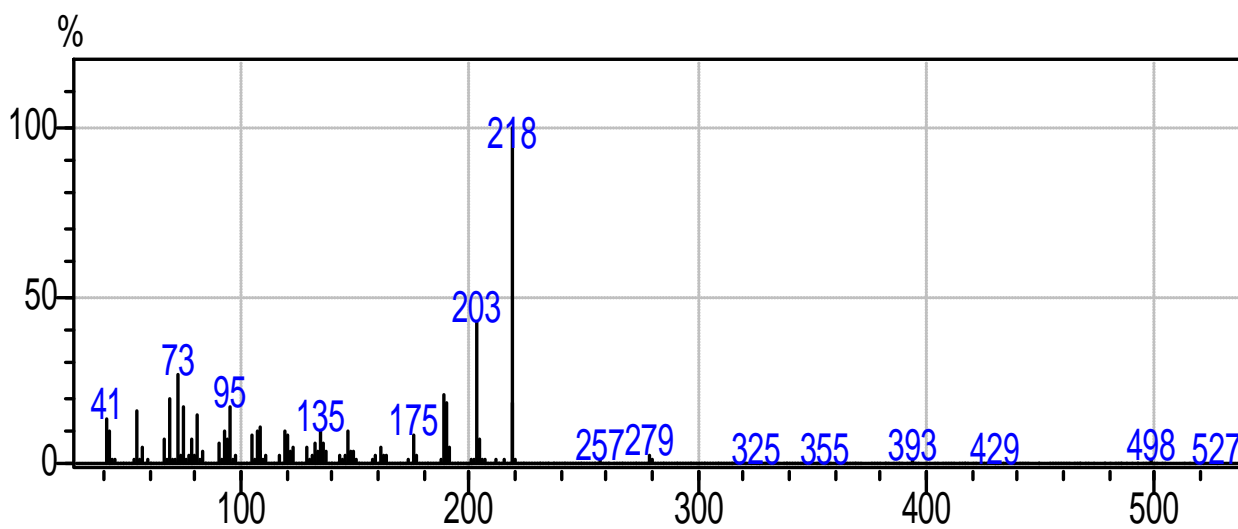


Fig. 5 – Espectro de massas do composto lupeol.

Fig. 6 – Espectro de massas do composto  $\alpha$ -amirina trimetilsilil éter.

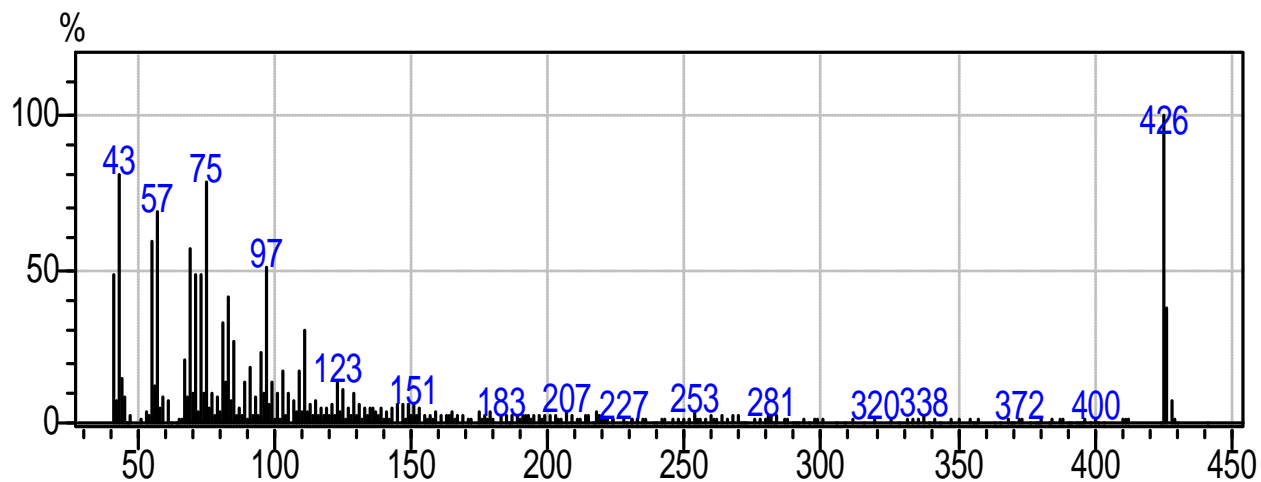


Fig. 7 – Espectro de massas do composto friedelina.

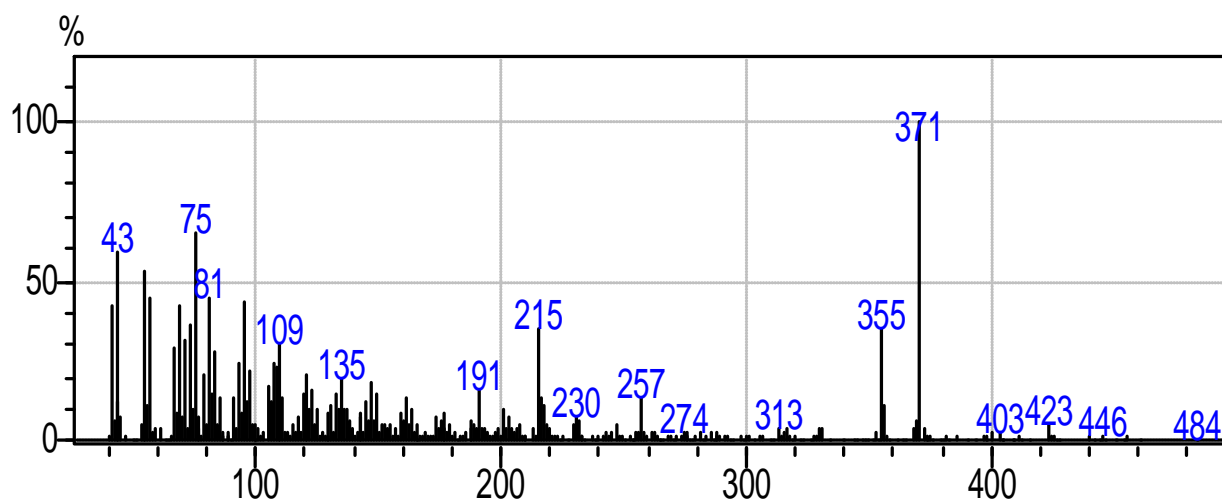


Fig. 8 – Espectro de massas do composto coprostanol trimetilsilil éter