

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

ANÁLISE DE BIOMARCADORES LIPÍDICOS PRESENTES EM
AMOSTRAS DE SEDIMENTO E MATERIAL PARTICULADO DO
MANGUEZAL DE RATONES, SC.

LUCIANA MATER

Florianópolis, março de 2001

Luciana Mater

**ANÁLISE DE BIOMARCADORES LIPÍDICOS PRESENTES EM
AMOSTRAS DE SEDIMENTO E MATERIAL PARTICULADO DO
MANGUEZAL DE RATONES, SC.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Química, Área de Química Analítica da Universidade Federal de Santa Catarina, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira
Orientador - Dep. Química UFSC

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Dep. Química UFSC

Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti
Dep. Química UFSC

Prof.^a Dra. Maria Marta de Souza Sierra
Dep. Química UFSC

Florianópolis, 23 de março de 2001

Pouco conhecimento faz que as criaturas se sintam orgulhosas.

Muito conhecimento, que se sintam humildes.

É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias a baixam para a terra, sua mãe.

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	ix
NOMENCLATURA	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	
1.1 Biomarcadores: definição	15
1.2 Fontes Marinhas de Matéria Orgânica	15
1.3 Fontes Terrestres de Matéria Orgânica	17
1.4 Matéria Orgânica Particulada	18
1.5 Pigmentos Fotossintéticos	19
1.6 Nutrientes	20
1.7 Perfil do Ecossistema manguezal	21
1.8 Área de Estudo	22
2. OBJETIVOS	26
3. EXPERIMENTAL	
3.1 Limpeza da vidraria	28
3.2 Solventes, Reagentes e Soluções	29
3.3 Coleta das Amostras	
3.3.1 Sedimento	31
3.3.2 Água	32
3.4 Extração da Fração Lipídica	
3.4.1 Sedimento	33
3.4.2 Material particulado	35

3.5	Fracionamento do Extrato Lipídico	35
3.6	Análise Cromatográfica	37
3.7	Análise de Fósforo	
3.7.1	Extração das Espécies Orgânica e Inorgânica de Fósforo	38
3.7.2	Determinação da Concentração de Ortofosfato	39
3.8	Análise de Carbono Orgânico e Nitrogênio Total	40
3.9	Análise de Pigmentos	40
3.10	Análise granulométrica	42
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4.1	Sedimento	46
4.1.1	Análise Granulométrica	46
4.1.2	Fósforo, carbono e nitrogênio	51
4.1.3	Extrato Lipídico	56
4.2	Material Particulado	70
4.2.1	Extrato Lipídico	70
4.2.2	Pigmentos	77
4.2.3	Correlação entre lipídios e pigmentos	79
4.2.4	Possíveis correlações entre lipídios, pigmentos e oscilações das marés	80
5.	CONCLUSÕES	87
	BIBLIOGRAFIA	90
	ANEXOS	100

LISTA DE FIGURAS

1	Estrutura de alguns pigmentos fotossintetizantes	19
2	Mapa da área de estudo com os respectivos pontos de amostragem. Pontos 1, 2, 3 e 4 indicam a amostragem de sedimento; pontos PN e PV indicam a amostragem de material particulado	24
3	Foto aérea do manguezal de Ratonos com os respectivos pontos de amostragem	25
4	Composição granulométrica das amostras de sedimento dos quatro pontos de coleta do manguezal de Ratonos (a) e dos três pontos de coleta do manguezal do Itacorubi (b)	49
5	Correlação entre a composição granulométrica dos sedimentos e o teor de carbono orgânico total (mmol g^{-1}) nos quatro pontos de coleta do manguezal de Ratonos (a) e dos três pontos de coleta do manguezal do Itacorubi (b)	51
6	Distribuição das espécies inorgânica e orgânica de fósforo frente à concentração total de fósforo nas amostras de sedimento provenientes do manguezal de Ratonos (a) e do Itacorubi (b)	55
7	Correlação entre a composição granulométrica e a concentração de fósforo total em amostras provenientes do manguezal de Ratonos	56

8	Distribuição dos hidrocarbonetos alifáticos presentes nas frações F1 dos sedimentos analisados nos pontos 1, 2, 3 e 4 do manguezal de Ratonés	59
9	Cromatograma parcial da fração neutra (F1) contendo a distribuição dos hidrocarbonetos alifáticos, ponto 1	60
10	Distribuição dos álcoois alifáticos presentes nas frações F3 dos sedimentos analisados nos pontos 1, 2, 3 e 4 do manguezal de Ratonés	63
11	Cromatograma parcial da fração contendo a distribuição dos álcoois (F3), ponto 3	64
12	Distribuição molecular dos ácidos alifáticos metilados presentes nas frações F4 dos sedimentos analisados nos pontos 1, 2, 3 e 4 do manguezal de Ratonés	68
13	Cromatograma parcial da fração contendo os ácidos carboxílicos metilados (F4), ponto 1	70
14	Cromatograma parcial do extrato lipídico de amostra de material particulado proveniente do manguezal de Ratonés, ponto de amostragem PN	74
15	Cromatograma parcial do extrato lipídico de amostra de material particulado proveniente do manguezal de Ratonés, ponto de amostragem PV	75

16	Variação sazonal da concentração de lipídios totais identificados no material particulado dos pontos PN e PV	76
17	Distribuição sazonal da concentração de lipídios totais e ácidos de cadeia curta nas amostras de material particulado do manguezal de Ratonés, pontos de amostragem PN (a) e PV (b)	77
18	Distribuição sazonal das concentrações de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila <i>c</i> e de carotenóides totais nas amostras de material particulado do manguezal de Ratonés, pontos de amostragem PN (a) e PV (b)	79
19	Comparação entre a variação sazonal da concentração lipídica total e de clorofila <i>a</i> em amostras de material particulado, manguezal de Ratonés, pontos de amostragem PN (a) e PV (b)	82
20	Variação nas concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados EPA (a) e DHA (b) comparativamente entre os dois pontos de coleta das amostras de material particulado PN e PV com relação à variação da maré	85

LISTA DE TABELAS

1	Relação de solventes e reagentes empregados no processo laboratorial	30
2	Parâmetros cromatográficos usados na identificação e quantificação dos compostos lipídicos	39
3	Tempos, profundidades e granulações para análise granulométrica	45
4	Quadro comparativo entre escalas granulométricas pelo método da pipetagem	45
5	Concentrações das frações de fósforo total, fósforo inorgânico, fósforo orgânico, carbono orgânico total, nitrogênio total e razões molares para amostras de sedimento provenientes dos manguezais de Rationes e Itacorubi	53
6	Resultados analíticos para alcanos, álcoois e ácidos lineares detectados nas amostras de sedimento do manguezal de Rationes para os pontos 1, 2, 3 e 4	58
7	Lipídios quantificados nas amostras de material particulado nos pontos de coleta PN e PV, manguezal de Rationes	73

NOMENCLATURA

C_n, onde n é igual a um número inteiro: número de carbonos em uma cadeia

AC: ácido carboxílico

OH: álcool carboxílico

OP: fósforo orgânico

IP: fósforo inorgânico

TP: fósforo total

TOC: carbono orgânico total

TN: nitrogênio total

C:P: razão molar entre carbono orgânico total e fósforo orgânico

C:N: razão molar entre carbono orgânico total e nitrogênio total

PN: ponto de coleta de amostra de água

PV: ponto de coleta de amostra de água

CG: cromatografia gasosa

CG/EM: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa

BSTFA: bistrimetilsilil-trifluoracetamida

FID: detector de ionização por chama

rpm: rotações por minuto

[Cl a]: concentração de clorofila a

[Cl b]: concentração de clorofila b

[Cl c]: concentração de clorofila c

[Carot]: concentração de carotenóides totais

$IPC_{HA/AC/OH}$: índice preferencial de carbono para alcanos, álcoois e ácidos, respectivamente. Baseiam-se na razão ímpar/par de uma determinada família de compostos, sendo muito empregados para estimar a presença de compostos terrestres em sedimentos (Ishiwatari *et al.*, 1993) É definido numericamente através das equações:

$$IPC_{HA} = \frac{2(\sum \text{ímpares } nC_{23} \text{ ao } nC_{31})}{[\sum(\text{pares } nC_{22} \text{ ao } nC_{30}) + (\text{pares } nC_{24} \text{ ao } nC_{34})]}$$

$$IPC_{AC/OH} = \frac{2(\sum \text{pares } nC_{22} \text{ ao } nC_{30})}{[\sum(\text{ímpares } nC_{21} \text{ ao } nC_{29}) + (\text{ímpare } nC_{23} \text{ ao } nC_{31})]}$$

F_{mn} , sendo m e n números inteiros: fração lipídica número m , amostra de sedimento ponto n

$RTA_{HA/AC}$: Razão Terrestre Aquático para hidrocarbonetos e ácidos, relaciona compostos de uma mesma classe lipídica com respeito ao predomínio de compostos de cadeias curtas (preferencialmente de origem marinha) ou longas (preferencialmente de origem terrestre). É definido numericamente pelas equações:

$$RTA_{HA} = \frac{(C_{27} + C_{29} + C_{31})}{(C_{15} + C_{17} + C_{19})}$$

$$RTA_{AC} = \frac{(C_{24} + C_{28} + C_{30})}{(C_{14} + C_{15} + C_{16})}$$

EPA: ácido eicosapentaenóico

DHA: ácido docosaexaenóico

RESUMO

Os estuários são caracterizados por possuírem diversas e abundantes fontes de matéria orgânica incluindo contribuições provenientes de várias origens terrestres e marinhas. No presente estudo os compostos lipídios encontrados nos extratos orgânicos de sedimentos coletados em quatro estações e do material particulado coletado em duas estações foram usados para determinar as fontes de matéria orgânica no manguezal de Ratoles SC. Os lipídios derivados de fontes terrestres (alcanos, ácidos carboxílicos e álcoois lineares $> C_{20}$) foram dez vezes mais abundantes nos sedimentos do que no material particulado. No entanto, a abundância relativa das maiores classes de compostos foi qualitativamente similar. Os ácidos graxos respondem por mais de 50% do extrato lipídico total, com base no somatório dos picos do CG. Os compostos predominantes foram ácidos graxos lineares de cadeia curta ($< C_{20}$), principalmente os ácidos saturados e monosaturados C_{16} e C_{18} , e cadeias ímpares de ácido graxos lineares e ramificados ($C_{14} - C_{19}$), atribuídos à fontes bacterianas. Os índices usados para avaliar contribuições marinhas e terrestres (IPC, RTA e razão C:N:P) para os sedimentos indicam claramente a contribuição de ambas fontes. Os teores de fósforo total e carbono orgânico nos sedimentos correlacionaram-se de maneira significativa com as frações silte e argila. Também foram observadas boas correlações entre os ácidos graxos de cadeia curta e os pigmentos, em especial à clorofila *a*. Dois ácidos graxos poliinsaturados derivados do fitoplâncton conhecidos como EPA e DHA foram encontrados em ambas as estações de amostragem de material particulado (PN e PV). Foram realizadas comparações mensais entre estas duas estações durante o ano de 2000. Foram observadas variações temporais e espaciais nas concentrações relativas de ambos ácidos e também com pigmentos. No entanto, as quantidades de EPA e DHA na estação PN são maiores do que na estação PV, indicando maior contribuição marinha na estação PN.

ABSTRACT

Estuaries are characterized by abundant and diverse sources of organic matter including inputs from a variety of marine and terrestrial origins. In the present study lipid compounds found in organic extracts of four sedimentary and two particulate stations were used to assess source of organic matter in Ratones mangrove, SC. Lipids from presumed terrestrial sources ($>C_{20}$ linear alkanes, alkanolic acids and alkanols) were ten times more abundant in the sediments than in the particulate material. However, the relative abundance of the major compound classes were qualitatively similar. Fatty acids accounted for $>50\%$ of the total extractable lipids, based upon summation of GC peaks. The predominant compounds were linear short-chain ($<C_{20}$) fatty acids, mainly C_{16} and C_{18} saturated and monosaturated acids, and odd-chain ($C_{14} - C_{19}$) linear and branched fatty acids, generally attributed to bacterial sources. Indices for assessment of land-derived and marine inputs (CPI, TAR and C:N:P ratio) to the sediments clearly indicate the strong contribution of both sources. Total phosphorus and organic carbon contents in the sediments significantly correlated to the silt and clay fractions. Good correlations were also seen for the short-chain fatty acids with pigments, in particular chlorophyll *a*. Two phytoplankton derived polyunsaturated fatty acids known as DHA and EPA were found in both particulate stations (PV and PN). Monthly comparisons were made between the two stations during 2000. The existences of temporal and spatial variations are observed in the relative abundance of both acids and also a good correlation with pigments. However, the DHA and EPA contents at PN station are higher than at PV, indicating greater marine inputs at PN station.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 BIOMARCADORES: DEFINIÇÃO

Basta uma rápida pesquisa bibliográfica com o uso da palavra chave *biomarcadores* para percebermos o quanto este termo é abrangente, sendo usado em várias áreas de pesquisa e com inúmeras finalidades. Um composto específico, certa enzima, por exemplo, quando produzido por um organismo, pode ser um indicativo de estresse desencadeado por algum tipo de contaminação (que geralmente também é específica) ou por representar algum sinal de doença, como o câncer. Por outro lado, existem compostos, como alguns tipos de moléculas lipídicas, que são encontrados apenas em grupos específicos de organismos, servindo como indicativos biológicos para os mesmos; são os chamados biomarcadores lipídicos.

Algumas moléculas lipídicas possuem esqueletos carbônicos mais resistentes à degradação e podem permanecer intactas por muitos anos. Um exemplo é o 2-metil-hopano, um biomarcador para cianobactérias (Summons *et al.*, 1999), detectado na fração orgânica de sedimentos. Estes compostos são abundantes em sedimentos datados em 2,7 bilhões de anos (Brocks *et al.*, 1999), e este grupo de bactérias foi o que primeiro usou o processo de fotossíntese envolvendo o oxigênio em nosso planeta.

1.2 FONTES MARINHAS DE MATÉRIA ORGÂNICA

A maior fonte de compostos orgânicos em ambientes marinhos é originada a partir da produção primária por plantas marinhas, o fitoplâncton. Esta produção primária é o resultado do crescimento destes organismos a

partir de processos fotossintéticos, fornecendo a base da cadeia alimentícia marinha. A quantidade e a taxa de produção do fitoplâncton são importantes para considerações a respeito da disponibilidade de alimentos na cadeia alimentar.

Um grande número de fatores físicos e químicos pode afetar o crescimento fitoplanctônico, como a luz (a taxa de fotossíntese aumenta em proporção a intensidade da luz, até alcançar um valor de saturação, onde ocorre a inibição da produção de clorofila), a temperatura (variações de temperatura de cerca de 10°C acima ou abaixo da temperatura de adaptação matam rapidamente a comunidade fitoplanctônica), a salinidade e a disponibilidade de nutrientes.

Os organismos fotossintetizantes têm uma composição diversa de pigmentos, sendo que a clorofila *a* representa o composto-chave na captura de energia luminosa para a fotossíntese. Como um incremento na capacidade dos organismos utilizarem faixas mais extensas de iluminação para a fotossíntese, existem outros pigmentos denominados pigmentos acessórios ou pigmentos antena, que absorvem luz em comprimentos de onda diferentes da clorofila *a*. A energia absorvida por estes outros pigmentos também tem como destino a fotossíntese.

Os principais compostos lipídicos produzidos por organismos marinhos, incluem, além dos pigmentos, os ácidos graxos saturados com cadeias contendo de 12 a 20 átomos de carbono, assim como pequenas quantidades de ácidos ramificados iso e anteiso. Ácido palmítico (C₁₆) e ácido esteárico (C₁₈), juntamente com ácidos insaturados com o mesmo número de átomos de carbono, são os mais abundantes. Os ácidos produzidos naturalmente possuem um predomínio das cadeias com números pares de

átomos de carbono sobre as cadeias com números ímpares devido a rota sintética, nos vegetais.

Algas marinhas sintetizam alcanos com cadeias contendo de 14 até 32 átomos de carbono, sendo que predominam os C_{15} ou C_{17} . Os alcanos encontrados na natureza possuem, ao contrário dos ácidos, cadeias carbônicas com predomínio de números ímpares de átomos de carbono, como consequência da descarboxilação dos ácidos produzidos. Os esteróis pertencem à outra classe de compostos produzida em ambiente marinho. Alguns, como o desmosterol (colest-5,24-dien-3 β -ol) e o fucosterol (24-etilcolest-5,22-dien-3 β -ol) são reconhecidos como os principais esteróis pertencentes a algas vermelhas e marrons, respectivamente. Outros, como o colesterol (colest-5-en-3 β -ol), são sintetizados em ambientes marinhos por espécies pertencentes ao zooplâncton.

1.3 FONTES TERRESTRES DE MATÉRIA ORGÂNICA

As plantas superiores terrestres são as maiores fontes de matéria orgânica em ecossistemas como os manguezais. Os lipídios derivados das ceras epicuticulares contêm em sua grande maioria ácidos de cadeias longas (as ceras diferem das gorduras pela troca do grupo glicerol por complexos grupos de esteróis ou por álcoois alifáticos com cadeias contendo de 16 a 36 átomos de carbono, predominantemente com números pares de átomos de carbono).

Os alcanos com cadeias contendo entre 10 e 40 átomos de carbono apresentam um predomínio de cadeias contendo números ímpares de carbono sobre as que contêm números pares (fator de até 10 vezes). Esta predominância é mais acentuada entre as cadeias C_{27} , C_{29} e C_{31} . Álcoois

alifáticos com cadeias contendo entre 24 e 36 átomos de carbono também são relativamente comuns, sendo que a predominância é das cadeias com números pares de carbono.

Alguns esteróis são reconhecidos como derivados de plantas superiores, como o campesterol (24α -metilcolest-5-en- 3β -ol), o sitosterol (24α -etilcolest-5-en- 3β -ol) e o estigmasterol (24α -etilcolesta-5,22-dien- 3β -ol).

1.4 MATÉRIA ORGÂNICA PARTICULADA

Normalmente, consideram-se como material particulado em um ambiente aquático, as espécies retidas em uma membrana filtrante com porosidade de $0,45\mu\text{m}$ (Millero, 1996). Fitoplâncton, bactérias e outros pequenos organismos heterotróficos como o microzooplâncton, são encontrados nesta categoria, assim como partículas detriticas e agregados originados no processo de vida do zooplâncton, como paletas fecais, conchas quitinosas e abrigos de larvas. O material particulado também pode ser formado por pequenas partículas em suspensão e matéria orgânica dissolvida ou coloidal, chamada de ‘neve marinha’, geralmente também retida pela filtração. Altas concentrações de matéria orgânica particulada são encontradas na superfície das águas durante o *bloom* fitoplanctônico na primavera (Grasshoff *et al.*, 1999).

Um grande número de partículas suspensas está presente como flocos ou grãos minerais, matéria orgânica e carbonato biogênico. Nos estuários, e em muitas áreas costeiras, existe o predomínio de partículas minerais, quase sempre ligadas de alguma forma com a matéria orgânica (Hunter & Liss, 1982).

1.5 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Uma maneira de acompanhar o crescimento do fitoplâncton a partir da coleta do material particulado é através da análise de pigmentos fotossintéticos. Sabe-se que o fitoplâncton marinho e macrófitas usam a clorofila e carotenóides como receptores primários e secundários de luz, respectivamente, para a fotossíntese. Em adição à presença da clorofila *a*, outros pigmentos como a clorofila *b* e *c* e os carotenóides são capazes de atuar como auxiliares na captação da energia luminosa, absorvendo energia em comprimentos de onda diferentes. A composição pigmentar tem sido usada para contribuir na identificação de espécies de algas em comunidades de fitoplâncton; a grande variedade de carotenóides fornece uma ajuda extra sob este aspecto (Grasshoff *et al.*, 1999).

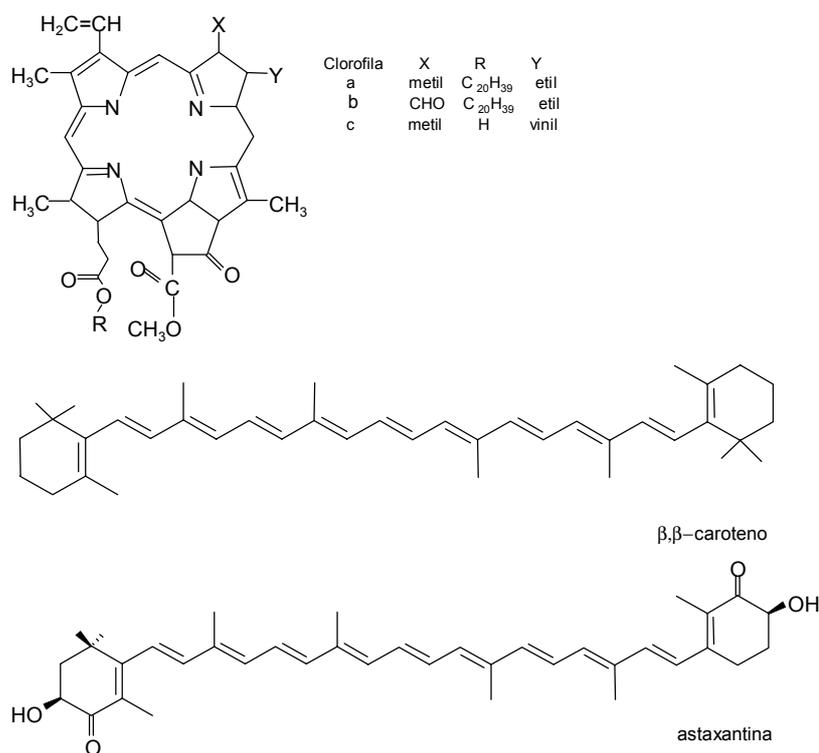


FIGURA 1 - ESTRUTURA DE ALGUNS PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES. EM CONTRASTE COM A UBIQUÏDADE DA CLOROFILA A, A CLOROFILA B É ENCONTRADA EM PLANTAS TERRESTRES E ALGAS VERDES, ENQUANTO QUE A CLOROFILA C É CONSTITUINTE DE FAEOFÍCEAS E DIATOMS. β,β-CAROTENO É ENCONTRADO EM INÚMEROS ORGANISMOS; A ASTAXANTINA É ENCONTRADA EM OVOS E CASCAS DE LAGOSTAS. (GRASSHOFF ET AL., 1999).

A extração e quantificação dos pigmentos são procedimentos que ocorrem em diversas etapas, podendo cada uma delas ser efetuada de diversas maneiras ligeiramente diferentes. Os métodos espectrofotométricos têm sido rotineiramente utilizados como base nas determinações de clorofila em limnologia e oceanografia devido a sua relativa simplicidade (operacional, técnica e de infra-estrutura) e ao seu conseqüente baixo custo (Grasshoff *et al.*, 1999). A figura 1 apresenta a estrutura das clorofilas *a*, *b* e *c* e de dois carotenóides.

1.6 NUTRIENTES

Um elemento nutriente está diretamente envolvido na produção de matéria orgânica pela fotossíntese em ambientes marinhos. Tradicionalmente em oceanografia química, o termo tem sido empregado para designar exclusivamente o fósforo, o nitrogênio e o silício, mas um número muito maior de elementos também são nutrientes. Todos estes constituintes tendem a ser removidos das águas superficiais pela incorporação em células, tecidos e estruturas extracelulares dos organismos vivos. Apenas uma quantidade relativamente pequena de partículas biogênicas fica livre e é depositada desta maneira nos sedimentos.

Fósforo existe nos oceanos na forma de íons do ácido fosfórico, H_3PO_4 . Cerca de 10% do fosfato inorgânico na água do mar está presente na forma de PO_4^{3-} e praticamente todo o fosfato restante está na forma de HPO_4^{2-} . Uma grande variedade de compostos orgânicos contendo fósforo está presente no ambiente marinho. Estes compostos são produtos da decomposição e excreção de organismos; compostos como fosfolipídios, fosfonucleotídeos de seus derivados também podem ser encontrados (Grasshoff *et al.*, 1999).

A quantificação de fósforo (P), nitrogênio(N) e carbono(C) pode fornecer, além de indicativos da produtividade primária, indícios do predomínio de fontes de matéria orgânica no ambiente de estudo. As duas maiores fontes de matéria orgânica nos sedimentos marinhos são as plantas terrestres e o fitoplâncton, cada uma tendo uma razão molar distinta entre os três elementos citados (C:N:P). O fitoplâncton marinho tem uma razão orgânica molar média C:P de 106:1, e média molar C:N de 6,6:1 (Redfield *et al.*, 1963). Se a matéria orgânica no sedimento marinho é caracterizada por uma mistura de fontes terrestres e marinhas, como em um ambiente costeiro, os sedimentos que são dominados por fontes terrestres de matéria orgânica devem ser caracterizadas por altos valores nas razões orgânicas C:P e C:N, enquanto que sedimentos dominados por fontes marinha devem ter um certo enriquecimento em fósforo e nitrogênio orgânicos, com razões molares C:P e C:N menores (Ruttemberg & Goñi, 1997).

1.7 PERFIL DO ECOSISTEMA MANGUEZAL

As áreas de manguezal são representativas de 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 (Novelli, 1989). Esse tipo de ambiente é tão produtor e fixador de energia quanto uma terra bem cultivada (Odum, 1970).

A queda das folhas das árvores e sua mistura com lodo, além de pelotas fecais e organismos em decomposição, formam restos orgânicos importantes, que são utilizados por bactérias e fungos, o que constitui importância fundamental desse ecossistema. O material solúvel desses detritos se dissolve na água, onde outras bactérias os aproveitam e ainda certos

animais detritívoros vão utilizá-los como alimento. Os próximos níveis da cadeia alimentar serão constituídos por peixes bentônicos, aves, peixes maiores e o homem.

Do ponto de vista ecológico, a vegetação de mangue provê alimentos e retém detritos sendo que, neste ambiente, os crustáceos são abundantes refugiando-se em galerias, escavadas no substrato ou correndo sobre a superfície do solo e até mesmo, subindo nas árvores. As raízes do mangue servem de substrato a um grande número de bivalves e seu intrincado sistema serve de proteção às larvas de muitos organismos que aí desovam. É importante ter-se em conta que todos estes organismos se reproduzem no manguezal e passam pelo menos seu estágio jovem protegidos entre as raízes das árvores ou em pequenas poças que se formam sobre o substrato, seja este lodoso ou arenoso. Ainda mais, jovens de espécies de interesse econômico tais como camarões, caranguejos e diversos peixes, encontram também proteção nesse sistema ecológico (Novelli, 1989).

1.8 ÁREA DE ESTUDO

O manguezal do rio Ratonés, situado à noroeste da Ilha de Santa Catarina, latitude 27° 29" S e longitude 48° 30" W na Baía Norte, abrange uma área de 6,25 km². Geograficamente, situa-se na planície da bacia do rio Ratonés, formada entre o Morro da Barra do Sambaqui, o Morro do Forte, o Morro Jurerê-Canasvieira e os morros da dorsal norte da Ilha (Silva, 1990).

O rio Ratonés, principal rio da bacia hidrográfica do mesmo nome, deságua em pequeno estuário na enseada de Ratonés delimitada pelo pontal da Daniela. Tem aproximadamente 10 km de extensão em média. Os rios e canais

dos manguezais apresentam-se sempre bastante meandrantas, favorecendo assim o escoamento lento das águas da zona terrestre para a zona estuária. Nesse processo há o transporte de carga de materiais, redistribuída sobre o substrato do manguezal, sendo então os nutrientes da vasa incorporados ao solo e às plantas (Silva, 1990).

O local de estudo é mostrado em formato de mapa (FIG. 2) e foto aérea (FIG.3), sendo que a última foi obtida no mês de setembro do ano de 1998 e possui escala de 1:15000.

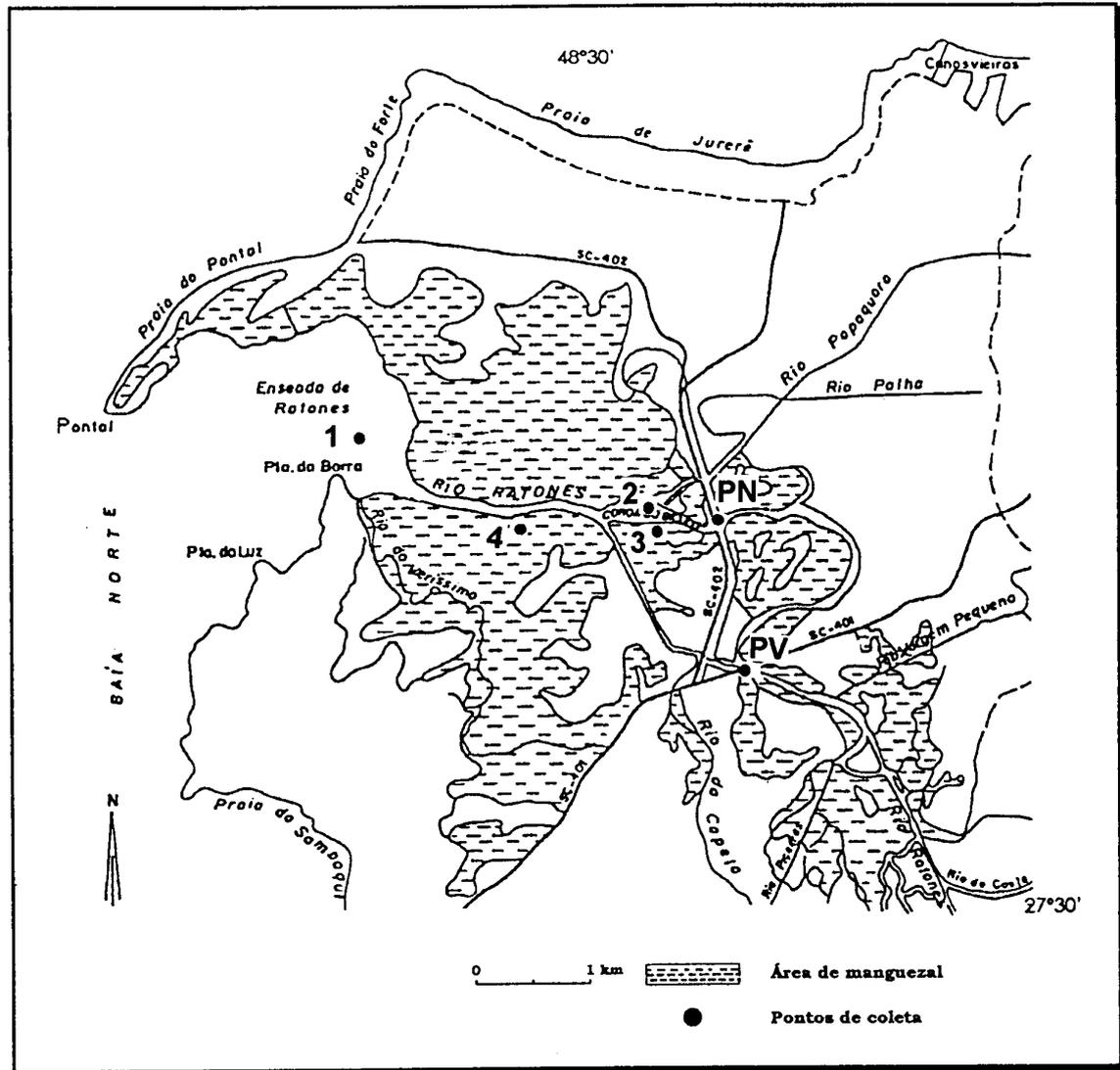


FIGURA 2 - MAPA DA ÁREA DE ESTUDO COM RESPECTIVOS PONTOS DE AMOSTRAGEM. PONTOS 1, 2, 3 E 4 INDICAM A AMOSTRAGEM DE SEDIMENTO; PONTOS PN E PV INDICAM A AMOSTRAGEM DE MATERIAL PARTICULADO.

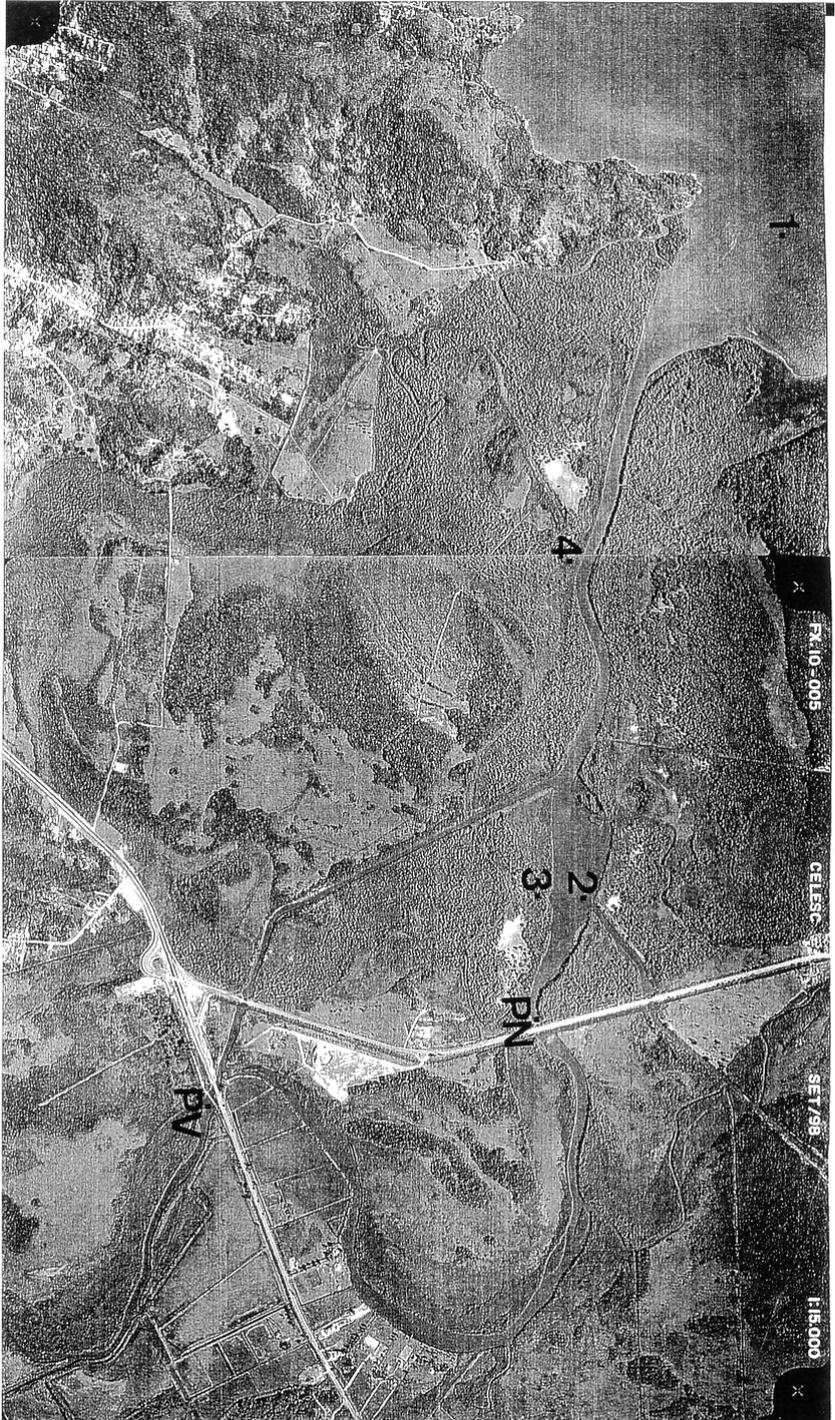


FIGURA 3 - FOTO AÉREA DO MANGUEZAL DE RATONES COM RESPECTIVOS PONTOS DE AMOSTRAGEM.
FONTE: CELESC

Objetivos

2 OBJETIVOS

OBJETIVOS GERAIS

Analisar os compostos presentes na fração lipídica de amostras de sedimento e material particulado provenientes do manguezal de Ratoles. Verificar possíveis correlações entre a composição orgânica das amostras e outros parâmetros, como granulometria, nutrientes e pigmentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A partir da extração da fração lipídica de amostras de sedimento e material particulado, identificar e quantificar compostos que possam ser usados como biomarcadores de material orgânico.

Quantificar as frações inorgânica e orgânica de fósforo nas amostras de sedimento, associando os resultados com os valores de carbono orgânico e nitrogênio total e com valores de IPC, RTA e razões C:N:P a fim de obter informações sobre a composição da matéria orgânica. Correlacionar a fração lipídica e nutrientes quantitativamente com a granulometria das amostras.

Nas amostras de material particulado, acompanhar sazonalmente a variação nas concentrações dos pigmentos clorofila *a*, *b* e *c* e de carotenóides totais verificando possíveis correlações com a distribuição molecular lipídica ou com compostos orgânicos específicos.

Experimental

3 EXPERIMENTAL

3.1 LIMPEZA DA VIDRARIA

Toda a vidraria utilizada no processo laboratorial, bem como qualquer outro acessório que possa vir a entrar em contato direto com a amostra, podem ser considerados como fontes potenciais de contaminação. Assim, é imprescindível que a etapa de limpeza de todas essas peças seja eficiente, ou seja, remova qualquer constituinte que interfira no resultado final da análise.

Inicialmente a vidraria é lavada com detergente (Detertec-7) e enxaguada em água corrente. Após, os utensílios são mantidos submersos por alguns minutos em solução hidroalcoólica de hidróxido de potássio (KOH 10% em solução de etanol-água 9:1) com posterior enxágüe com água destilada. A última etapa de limpeza consiste em aquecimento em mufla (400°C por um período de 4 horas).

A vidraria utilizada para a análise de fósforo é mantida submersa por 24 horas em solução de HCl 15% após a lavagem com detergente, seguido de enxágüe com água deionizada e secagem em estufa a uma temperatura de 160°C.

3.2 SOLVENTES, REAGENTES E SOLUÇÕES

TABELA 1 – RELAÇÃO DE SOLVENTES E REAGENTES EMPREGADOS NO PROCESSO LABORATORIAL

SOLVENTE , REAGENTE	GRAU DE PUREZA	PROCEDÊNCIA
5 α -colestano	Cromatografia	Sigma
Acetato de Etila	Pesticida	Tedia
Acetona	Analítico	Nuclear
Ácido Clorídrico	Analítico	Grupo Química
Ácido l-ascórbico	Analítico	Nuclear
Ácido Sulfúrico	Analítico	Nuclear
Alumina Neutra	Analítico	Carlo Erba
BSTFA	Cromatografia	Sigma
Cobre Metálico	Analítico	Nuclear
Diclorometano	ABSOLV	Tedia
Fosfato Monobásico de Potássio	Analítico	Vetec
Metanol	HPLC	Tedia
Molibdato de Amônia	Analítico	Nuclear
Hexano	HPLC	Tedia
Persulfato de Potássio	Analítico	Vetec
Sílica gel	Analítico	Carlo Erba
Sulfato de Sódio Anidro	Analítico	Nuclear
Tartarato de Antimônio e Potássio	Analítico	Vetec

A seguir é descrito o modo como foram preparadas as soluções usadas nas análises de fósforo e de clorofila (Murphy & Riley, 1962; Strickland & Parsons, 1972).

Solução de Ácido Sulfúrico: Transferiram-se 250 mL de água deionizada para uma proveta em banho de gelo. Vagarosamente e sob constante agitação foram adicionados 250 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Após resfriada, esta solução foi diluída ao volume final de 1 litro.

Solução de Ácido Ascórbico: Pesaram-se 10 g de ácido ascórbico com posterior dissolução em 50 mL de água deionizada.

Solução mix (Molibdato de Amônia e Tartarato de Potássio): a) Pesaram-se 12,5g de molibdato de amônia que foram dissolvidos em 125 mL de água deionizada. Adicionaram-se 350 mL da solução de ácido sulfúrico com homogeneização. b) Pesaram-se 0,50g de tartarato de antimônio e potássio que foram dissolvidos em 20 mL de água deionizada. A solução b foi então misturada à solução a.

Solução Estoque de Fosfato ($P-PO_4^{3-}$ 10 mmol L⁻¹): Pesou-se exatamente 0,1361g de fosfato de potássio monobásico (seco em estufa a 110°C por 2 horas e esfriado em dessecador), dissolvidos posteriormente em água deionizada contendo 0,2 mL da solução de ácido sulfúrico. A solução foi diluída em 100mL de água deionizada.

Soluções Padrão para Curva Analítica: Pipetou-se 1 mL da solução estoque de fósforo que foi diluída a 100 mL com água deionizada. A partir dessa solução (100μ mol L⁻¹) foram feitas as diluições para preparar soluções com concentrações de fósforo variando entre 1 μ mol L⁻¹ e 20 μ mol L⁻¹.

Solução Oxidante de Persulfato de Potássio: Foram pipetados 5 mL da solução de ácido sulfúrico 4,5 mol L⁻¹ e diluídos ao volume de 100 mL. Pesaram-se 5 g de persulfato de potássio que foram posteriormente dissolvidos na solução ácida.

Solução de Acetona 90%: Pipetaram-se 10 mL de água destilada e completou-se o volume para 100 mL com acetona em balão volumétrico.

3.3 COLETA DAS AMOSTRAS

3.3.1 Sedimento

A coleta do sedimento foi feita de duas formas distintas, dependendo da localização dos pontos (submersos ou margeando o Rio Ratonas) (FIG. 3).

Para os pontos 3 e 4, que estavam localizados às margens do curso d'água, inicialmente foi feita a remoção dos detritos superficiais visíveis, como folhas e galhos. Após, com o auxílio de uma espátula, foi feita a coleta do sedimento superficial, atingindo uma profundidade máxima no solo de 10 cm. O sedimento coletado foi armazenado em dois recipientes de vidro com capacidade de 500 mL cada e a eles adicionado 20mL de diclorometano como auxiliar na preservação das amostras. Os frascos foram então identificados e acondicionados em caixa térmica contendo gelo.

Para os pontos 1 e 2, localizados dentro do curso d'água, o sedimento foi coletado com auxílio de um amostrador composto basicamente por um cilindro de PVC com 5 cm de diâmetro e 21 cm de comprimento, contendo tampas removíveis também de PVC em cada extremidade. O sedimento foi coletado com a passagem do cilindro (sem as tampas) horizontalmente pela superfície do solo. Quando todo o volume do amostrador foi preenchido pelo sedimento, suas extremidades foram fechadas. O cilindro foi trazido à superfície e seu conteúdo transferido para os recipientes de vidro. Repetiu-se o processo de adição de diclorometano, identificação e acondicionamento dos recipientes em caixa térmica com gelo. Todos os

frascos contendo as amostras de sedimento foram armazenados em freezer até a realização das análises.

3.3.2 Água

Foram coletadas amostras de água entre os meses de março e novembro de 2000 em dois pontos denominados PN e PV (FIG. 3 e 4).

Para a coleta das amostras foi utilizado um acessório construído em laboratório composto por um frasco coletor de vidro âmbar com capacidade de 1L preso a uma haste, cujo comprimento era regulado pela composição de unidades montáveis de PVC. A unidade mais próxima ao frasco possuía marcas para indicação da profundidade da coluna d'água. A abertura do frasco coletor, quando o mesmo encontrava-se já submerso, foi feita por uma corda presa a tampa. A amostragem para ambos os pontos foi realizada sobre pontes.

Inicialmente, o frasco coletor tampado e preso à haste foi baixado até uma profundidade de 20 cm medidos a partir da superfície da água. Nesse momento, a tampa foi removida e permitiu-se que o frasco fosse parcialmente preenchido pela água. O frasco então foi recolhido e a amostra coletada descartada. Repetiu-se o processo de amostragem à mesma profundidade, permitindo-se que o frasco fosse totalmente preenchido pela água. Nesse momento, é feita a sua remoção cuidadosa com posterior vedação, identificação e acondicionamento em caixa térmica com gelo.

Após a coleta, as amostras de água foram imediatamente trazidas ao laboratório, onde foi realizado o processo de filtração. O período máximo entre a etapa de coleta da água e a sua filtração não excedeu 40 minutos.

Para cada ponto de amostragem foram filtrados um total de 900 mL de água. Uma primeira membrana contendo o material particulado presente em 300 mL de água foi usada para a extração da fração lipídica total; os restantes 600 mL de água foram divididos igualmente em três porções e filtrados com o uso de outras três membranas para a análise em triplicata dos pigmentos. Após a filtração, as membranas foram acondicionadas em envelopes individuais de papel alumínio e armazenadas em freezer por um período máximo de duas semanas.

As amostras de água foram filtradas a vácuo, sendo que a bomba utilizada foi mantida isolada em capela com o objetivo de evitar contaminação pelos gases expelidos. O processo de filtração procurou ser rápido e feito com o mínimo de luz incidente a fim de se reduzir a degradação dos pigmentos. Foram empregadas membranas de fibra de vidro (Millipore® AP20), que inicialmente foram calcinadas por 4 horas em temperatura de 400°C. A rota de extração descrita no item 3.4.2 foi aplicada em membranas após a calcinação para verificação de possível contaminação. Foram usados os mesmos parâmetros da extração normal, como volume de solvente e tempo de ultrassonificação. Após todo o processo, foi feita a concentração do solvente (aproximadamente 0,5 mL) e a análise em cromatógrafo, que não acusou a presença de compostos interferentes.

3.4 EXTRAÇÃO DA FRAÇÃO LIPÍDICA

3.4.1 Sedimento

Inicialmente as amostras de sedimento foram liofilizadas. Na liofilização, a água é removida da amostra pela passagem direta de seu estado

sólido (congelada) ao estado de vapor, sob vácuo. A liofilização é uma alternativa de secagem aplicável às amostras que possam sofrer degradação térmica, garantindo que as características essenciais do material sejam mantidas. No entanto, existe a possibilidade de perda de compostos mais voláteis durante este processo de secagem. Todas as amostras de sedimento foram liofilizadas (Edwards F105-03-000, operando em temperatura de -40°C e com pressão de sucção normal de 0,7 bar).

Cerca de 20g de sedimento seco foram distribuídos igualmente em dois tubos de vidro usados em centrífuga com capacidade de 50 mL. Adicionou-se uma mistura de solventes composta por diclorometano e metanol (2:1) em volume suficiente para preencher o dobro do espaço ocupado pelo sedimento no frasco. O frasco foi agitado mecanicamente até completa homogeneização e a seguir permaneceu em banho ultra-sônico (Unique, modelo USC1450, operando com frequência de 25 kHz; sem mecanismo de termostatização) por 20 minutos. Os tubos foram levados para centrifugação (5.000 rpm; 5 minutos) e o sobrenadante foi retirado cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta de pasteur. O processo foi repetido por mais duas vezes, mudando-se o solvente, que passa a ser apenas diclorometano. O solvente resultante da combinação das três extrações consecutivas foi evaporado em rota-vapor (Fisatom, modelo 802, operando com velocidade de rotação de 40 rpm com torque constante; termostatização do sistema em 25°C). Após, o extrato foi transferido para um recipiente de vidro com capacidade de 2 mL. Usou-se uma pequena quantidade de diclorometano para o auxílio na transferência de todo o extrato remanescente nas paredes internas do balão evaporador. O extrato foi mantido em freezer até seu fracionamento.

3.4.2 Material Particulado

Foi feita a extração da fração lipídica presente nas membranas usadas para filtrar 300 mL de água. Não houve nenhum processo de secagem antecedendo à extração. Inicialmente a membrana foi colocada em um tubo de vidro usado em centrífuga com capacidade de 20 mL e seguiu-se o mesmo processo empregado na extração da fração lipídica para o sedimento. A rotação usada na centrifugação foi de 2.500 rpm por um período de 5 minutos. O extrato foi armazenado em freezer até a posterior análise cromatográfica.

3.5 FRACIONAMENTO DO EXTRATO LIPÍDICO

A identificação e quantificação dos compostos presentes no extrato total através da análise cromatográfica geralmente é dificultada e, às vezes, impedida pelo fato de existirem sobreposição de picos, visto a grande complexidade da matriz e as diferenças de concentração entre os constituintes da amostra. Objetivando-se a melhor visualização dos diferentes grupos lipídicos, o extrato total extraído das amostras de sedimento foi fracionado em microcoluna cromatográfica de vidro. Foram usados como fase estacionária os adsorventes de sílica gel (2g, porção inferior da microcoluna) e de alumina neutra (2g, porção superior da microcoluna), pré extraídos com diclorometano em extrator Soxhlet por 24 horas e ativados antes do uso com aquecimento por 4 horas à 400°C (Collins *et al.*, 1993; Wang, 1994).

Foram separadas quatro frações, eluindo-se seqüencialmente 13 mL de hexano (F1), 18 mL de diclorometano (F2), 20 mL de acetato de etila/metanol 3:1 (F3), e 20 mL de etanol/ácido acético 10:1 (F4) (Sicre *et al.*, 1994). Após a separação, todas as frações foram concentradas com rota vapor e posteriormente com fluxo de nitrogênio até um volume aproximado de 1

mL, com posterior armazenamento em freezer até a análise cromatográfica. Antes da injeção no cromatógrafo, as amostras pertencentes às frações 3 e 4 sofreram derivação química. Na cromatografia gasosa, é necessário que o composto analisado seja razoavelmente volátil e termicamente estável na temperatura de trabalho. Os ácidos e os álcoois são analisados na forma de derivados químicos. A chamada derivação química é muito útil em casos onde se deseja:

- Aumentar a volatilidade e diminuir a polaridade de compostos muito polares;
- Estabilizar compostos que são instáveis nas temperaturas necessárias para a análise de CG;
- Promover a melhor separação de grupos;
- Fornecer informações a respeito de grupos funcionais presentes na amostra, especialmente em CG-EM (Baugh, 1993).

Foi realizada a metilação dos ácidos e ésteres alquílicos (esterificação ou transesterificação) e a silanização dos álcoois.

Metilação

Inicialmente todo o solvente presente no extrato lipídico é evaporado sob fluxo de nitrogênio até securo, com posterior dissolução do mesmo em 1 mL de tolueno. A essa solução são acrescentados 2 mL do produto da reação (20 mL de metanol e 2 mL de cloreto de acetila, sendo que a reação procede-se com o metanol gelado e com o sistema mantido em banho de gelo). A solução é mantida em estufa por 12 horas em temperatura de 50°C sob atmosfera de nitrogênio. Após este período, são acrescentados 1 mL de diclorometano e 1 mL de solução de NaCl 10%, segue-se agitação e centrifugação para melhor separação das fases aquosa e orgânica. A fase orgânica é retirada com o auxílio de pipeta de pasteur e passada em uma

microcoluna de vidro contendo sulfato de sódio anidro. O extrato é recolhido em tubo de vidro apropriado e reduzido com fluxo de nitrogênio para análise cromatográfica.

Silanização

A silanização foi feita com a adição de 20µL do reagente bistrimetilsilil –trifluoracetamida (BSTFA) ao recipiente contendo o extrato sem solvente. A solução é mantida em estufa por 1 hora em temperatura de 60°C sob atmosfera de nitrogênio. Após, o agente silanizante é evaporado sob fluxo de nitrogênio e o solvente (diclorometano) é adicionado em quantidade apropriada à análise cromatográfica.

3.6 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

A identificação dos compostos foi feita em um cromatógrafo a gás da marca Shimadzu, modelo GC14B acoplado a um espectrômetro de massa da marca Shimadzu, modelo GCMS-QP2000. Usou-se uma coluna cromatográfica capilar de sílica fundida CBP1 (25 m x 0,25 mm d.i; 0,25µm de espessura de fase). O gás de arraste usado foi o hélio. Modo de ionização usado foi o de impacto de elétrons (70 eV), com intervalo de varredura de 50 a 500 uma a cada 2 segundos.

Os compostos foram quantificados em um cromatógrafo a gás da marca Shimadzu, modelo GC-17 A, com uma coluna DB-1 (30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25 µm de espessura do filme da fase estacionária), equipado com um detector de ionização por chama (FID). O gás de arraste usado foi o nitrogênio.

TABELA 2 - PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS USADOS NA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS LIPÍDICOS

Tempo de Splitless	1 min
Divisão de Fluxo	1:40
Fluxo do Gás Carreador	2 mL/min
Temperatura Inicial do Forno	40°C
Taxa de Aquecimento entre 40 e 180°C	10°C/min
Taxa de Aquecimento entre 180 e 310°C	4°C/min
Tempo de isoterma em 310°C	15 min

A programação de aquecimento, assim como os outros parâmetros cromatográficos foi mantida tanto na identificação dos compostos como em sua quantificação (TABELA 2).

3.7 ANÁLISE DE FÓSFORO

3.7.1 Extração das espécies orgânica e inorgânica de fósforo

A determinação das concentrações de fósforo foi realizada apenas nas amostras de sedimento. Inicialmente, foram pesadas duas frações de cerca de 0,1g de sedimento liofilizado para cada amostra. Uma fração foi levada à mufla por 1 hora em temperatura de 500°C. A seguir, as amostras de sedimento foram transferidas para tubos de centrífuga com a adição de 10 mL da solução de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹. Os frascos foram agitados mecanicamente a cada 20 minutos, por um período de 1 hora. A seguir, o sobrenadante foi separado por centrifugação (10 minutos, 6000 rpm) e o processo de extração foi repetido novamente. A combinação dos sobrenadantes resultantes das duas extrações foi transferida para digestores de Teflon®. O fósforo extraído da fração calcinada é considerado como sendo o fósforo total e o fósforo extraído da segunda fração é considerado como sendo

o fósforo inorgânico. As amostras foram então digeridas por 4 horas em sistema fechado (80°C) com a adição de 1,6 mL da solução ácida de persulfato de potássio (Koroleff, 1983). Após, o volume final das amostras foi completado para 50 mL com água deionizada usando-se balão volumétrico. Foi feito o acompanhamento com branco das amostras durante o processo de extração e digestão ácida.

3.7.2 Determinação da Concentração de Ortofosfato

O método usado segue essencialmente o procedimento proposto por Murphy e Riley (1962), com pequena modificação, no qual a única solução reagente foi dividida em duas: a primeira contém ácido sulfúrico, molibdato de amônia e íons antimônio; a segunda é a solução de ácido ascórbico. Utilizando-se essas duas soluções, os reagentes tornam-se mais estáveis (Koroleff, 1983).

Após a etapa de digestão, ambas as frações de fósforo (inorgânica e total) encontram-se na forma de ortofosfato. Assim, procedeu-se a análise pelo método fosfomolibídico com redução pelo ácido ascórbico, onde íons de antimônio trivalentes são incorporados a uma simples solução que reage rapidamente com íons fosfato, originando um complexo azulado contendo antimônio em uma relação 1:1 para o fósforo e cuja cor formada equivale à sua concentração. Inicialmente 10 mL das amostras em triplicata, do branco e das soluções padrão de fósforo com concentrações de 1, 2, 5, 10, 15 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram transferidos para tubos de ensaio devidamente identificados. A cada tubo foram adicionados 0,2 mL da solução de ácido ascórbico e 0,2 mL da solução mix de molibdato e tartarato. Após homogeneização e repouso por 30 minutos, foi feita a leitura da absorvância em comprimento de onda de 880 nm (Milton Roy, Mod. 21D). A partir da construção da curva de calibração com as

soluções padrão, foram calculadas as concentrações de fósforo para cada amostra e os valores expressos em unidade de $\mu \text{ mol L}^{-1} \text{ g}^{-1}$. A diferença entre os valores de concentração de fósforo total e fósforo inorgânico forneceram os valores de concentração para fósforo orgânico.

3.8 ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO E NITROGÊNIO TOTAL

A análise de carbono orgânico e nitrogênio total nas amostras de sedimento foram feitas usando um aparelho de análise elementar da marca Carlo Erba modelo EA1110. As amostras inicialmente foram tratadas com uma solução de ácido clorídrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, a fim de remoção de materiais carbonáceos. Após, foram secas com aquecimento brando (cerca de 60°C em chapa de aquecimento).

3.9 ANÁLISE DE PIGMENTOS

Foram quantificados nas amostras de material particulado, os pigmentos clorofila a, b e c (Jeffrey & Humphrey, 1975) e os carotenóides totais (Parsons *et al.*, 1984). Os pigmentos são quantificados através de sua absorção de luz em diferentes comprimentos de onda. Cada pigmento tem comprimento de onda característico no qual as absorvâncias terão um pico. A concentração de cada pigmento é calculada a partir de equações baseadas nos coeficientes de absorção dos pigmentos puros.

Cada membrana em triplicata contendo o material particulado presente em 200 mL de água foi cuidadosamente transferida para tubos de ensaio previamente revestidos externamente com papel alumínio. Foi usada uma membrana limpa como branco. Foram adicionados 10 mL de solução de

acetona 90% em cada tubo, que após tampados, foram vigorosamente agitados com auxílio de um agitador tipo vortex. Os tubos foram mantidos sob refrigeração por 20 horas. Após, foi feita a centrifugação (4000 rpm; 10 minutos) e a leitura da absorvância do sobrenadante em espectrofotômetro (Milton Roy, Mod 21D) nos comprimentos de onda de 750, 665, 664, 647, 630, 510 e 480 nm.

As concentrações dos pigmentos são calculadas segundo as equações abaixo (Jeffrey & Humphrey, 1975):

$$[Cl a] \mu g.L^{-1} = \frac{(11,85.A - 1,54.B - 0,08.C).v}{V.l}$$

$$[Cl b] \mu g.L^{-1} = \frac{(21,03.B - 5,43.A - 2,66.C).v}{V.l}$$

$$[Cl c] \mu g.L^{-1} = \frac{(24,52.C - 1,67.A - 7,60.B).v}{V.l}$$

Onde:

[Cl a], [Cl b] e [Cl c] são as concentrações dos pigmentos clorofila a, b e c na amostra em microgramas por litro;

A: absorvância em 664 nm menos o branco total;

B: absorvância em 647 nm menos o branco total;

C: absorvância em 630 nm menos o branco total;

v: volume da acetona em mL usado na extração;

V: volume de amostra filtrado em L;

l: percurso óptico das cubetas em cm.

Para o cálculo da concentração dos carotenóides totais usou-se a equação descrita a seguir (Parsons *et al.*, 1984):

$$[Carot]_{\mu g.L^{-1}} = \frac{7,6[(D)-1,49(E)]v}{V.l}$$

Onde:

[Carot]: concentração de carotenóides totais em microgramas por litro;

D: absorvância em 480 nm menos três vezes branco total;

E: absorvância em 510 nm menos duas vezes o branco total;

v: volume da acetona em mL usado na extração;

V: volume de amostra filtrado em L;

l: percurso óptico das cubetas em cm.

O valor de absorvância do branco total é a soma do valor do branco da membrana lido em todos os comprimentos de onda mais o valor de absorvância da turbidez, lido em comprimento de onda de 750 nm.

3.10 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A preparação inicial das amostras de sedimento para a análise granulométrica objetiva deixar o material em estudo em condições apropriadas para seu processamento, podendo ser dividida em etapas distintas, compostas basicamente pela remoção dos sais, da matéria orgânica e do material carbonáceo.

Inicialmente cada fração com cerca de 100 g de cada amostra de sedimento foi lavada com água destilada em um aparato simples de filtração por gravidade (papel filtro Whatman 42). Em seguida, a amostra foi levada para secagem em estufa em temperatura de 60°C por aproximadamente 4 horas. A etapa seguinte consistiu na calcinação da amostra em mufla por 4

horas sob temperatura de 500°C. Vale ressaltar que a massa inicial empregada pode variar, dependendo da observação visual da mesma (amostras compostas por grande quantidade de material orgânico devem ser pesadas em maior quantidade). Posteriormente, foi acrescentada à amostra uma quantidade de solução de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ suficiente para deixar a mesma submersa. Novamente foi feita a lavagem da amostra com água destilada e secagem em estufa (60°C, 8 horas).

Após a preparação prévia das amostras, isentas de sais, de matéria orgânica e biodetritos, foi feito o quarteamento para obtenção de uma fração representativa do material em análise. O material foi então separado em diferentes intervalos de grãos, utilizando-se os métodos do peneiramento e pipetagem. A escala granulométrica empregada foi a de Wentworth (TABELA 4). Apenas foram feitas distinções entre areia, silte e argila, não havendo distinção entre as subclasses de cada fração.

O material com tamanho de partícula menor que 0,0625mm (sedimentos finos), foi separado segundo o 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 de tempo definidos), em profundidade que corresponde à do material que acabara de sedimentar naquele momento. As quantidades de materiais em cada uma das classes granulométricas são obtidas a partir das mudanças nas concentrações de material em suspensão; a determinação é feita pela pesagem do resíduo seco da pipetagem (Suguio, 1973).

TABELA 3 - TEMPOS, PROFUNDIDADES E GRANULAÇÕES PARA ANÁLISE
PIPETAGEM

PELO MÉTODO DA

Diâmetro (mm)	Profundidade (cm)	Horas	Minutos	Segundos
0,062	20	0	0	58
0,031	10	0	3	52
0,016	10	0	7	44
0,008	10	0	31	-
0,004	10	2	3	-
0,002	10	8	10	-
0,001	5	16	21	-
0,0005	5	65	25	-

Fonte: Suguio, 1973

TABELA 4- QUADRO COMPARATIVO DE ESCALAS GRANULOMÉTRICAS

Diâmetro (MM)	Wentworth (Americana)	Diâmetro (MM)	Atterberg (modernizada) (Alemã)	Diâmetro (MM)	Bogomolov (Soviética)	Tipo de sedimento		
1 024	MATAÇÃO	60	BLOCO	200 100 60	Grande Médio	BLOCO		
256	BLOCO	20	Grande	20 10	Fino	SEIXO		
64	SEIXO		Médio		Grande			
4	GRÂNULO	6	Fino	4	Pequeno	SEIXO		
2	Muito grossa	2	Grossa	2	Muito grossa	AREIA		
1	Grossa	0,6	Média	1	Grande			
1/2	Média	0,2	Fina	0,5	Média			
1/4	Fina	0,06	Fina	0,25	Fina			
1/8	Muito fina			0,10	Muito fina			
1/16	Grosso	0,02	Grosso	0,05	Grosso	SILTE		
1/32	Médio		Médio				0,01	Fino
1/64	Fino		Fino				0,005	Grossa
1/128	Muito fino	0,006	ARGILA	Fina				
1/256	Argila				0,002	0,001	ARGILA	
1/512	Ultra-argila	0,001	ARGILA	0,001	ARGILA			
1/1 024								
1/2 048								

Resultados e Discussão

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SEDIMENTO

4.1.1 Análise Granulométrica

O resultado da análise granulométrica mostrou a diversidade composicional entre as quatro amostras de sedimento estudadas (FIG. 4a). O ponto 2 apresentou a maior concentração arenosa (75,7%), possivelmente por localizar-se em uma área onde o fluxo de água era maior. Este ponto de coleta foi caracterizado por apresentar bancos de areia, onde a profundidade da coluna d'água era bastante reduzida. Os pontos 1 e 3 apresentaram os níveis mais baixos de areia entre os 4 pontos (5,5% e 3,6%, respectivamente), sendo considerados como áreas de acumulação de sedimentos. Percebeu-se claramente a grande influência dos aspectos hidrodinâmicos na formação granulométrica dos sedimentos, onde em áreas de estreitamento do leito e em menores profundidades predominaram sedimentos associados às partículas maiores (areia), enquanto que em áreas onde existe uma diminuição do fluxo e um aumento na profundidade da coluna d'água predominaram sedimentos com granulações mais finas (frações silte e argila).

A caracterização granulométrica assume um papel importante quando é observado que certos tipos de compostos orgânicos são encontrados preferencialmente adsorvidos em determinadas espécies minerais. A areia de um modo geral pode ser considerada como um mineral de comportamento químico inerte ou que adsorve quantidades insignificantes de matéria orgânica (Suguio, 1973); a argila e o silte, no entanto, comportam-se de maneira oposta, apresentando forte correlação com material orgânico.

Existe um grande grau de heterogeneidade em sedimentos de estuários e manguezais ligados fortemente a sua diversidade composicional. Diferentes sedimentos podem possuir capacidades significativamente diferenciadas de concentrar compostos orgânicos e metais, contaminantes ou não. Por exemplo, a distribuição das partículas conforme seu tamanho de grão (granulometria) é provavelmente um dos fatores mais importantes que governam as concentrações de metais presentes em sedimentos (Chapman & Wang, 2001). Existem correlações feitas com frequência entre a diminuição do tamanho das partículas e um aumento nas concentrações de metais.

Foi possível a observação de uma correlação positiva entre a granulação do sedimento e a quantidade de matéria orgânica presente, onde podemos dizer que o padrão de associação entre os grãos de menores dimensões e a matéria orgânica foi mantido (FIG. 5). Esta mesma observação é válida quando os resultados são comparados com dados obtidos de parte de um estudo complementar a este trabalho de mestrado realizado com amostras provenientes do manguezal do Itacorubi, SC. Neste trabalho foram coletadas amostras de sedimento em três pontos distintos do manguezal, denominados ITAC 1, ITAC 2 e ITAC 3, localizados respectivamente nos rios Sertão, Itacorubi e na confluência dos citados rios (Anexo). Todo o procedimento de preservação e análise aplicado foi semelhante ao empregado com as amostras provenientes do manguezal de Ratoles, sendo que o único diferencial ocorreu

na etapa de coleta, no qual foi utilizado um amostrador do tipo Van Veen. A composição granulométrica destas três amostras de sedimento não apresentou grande diversidade, sendo que os valores médios nos teores de areia, silte e argila foram de 24,2%, 61,9% e 13,9% respectivamente. Apesar da dificuldade em relacionar uma espécie granulométrica com certo grupo de compostos orgânicos, trabalhos anteriores já demonstraram a existência de uma relação entre a variação do teor de carbono orgânico total e o percentual de argila e silte em amostras de sedimentos de lagoas (Rodrigues Neto, 1998).

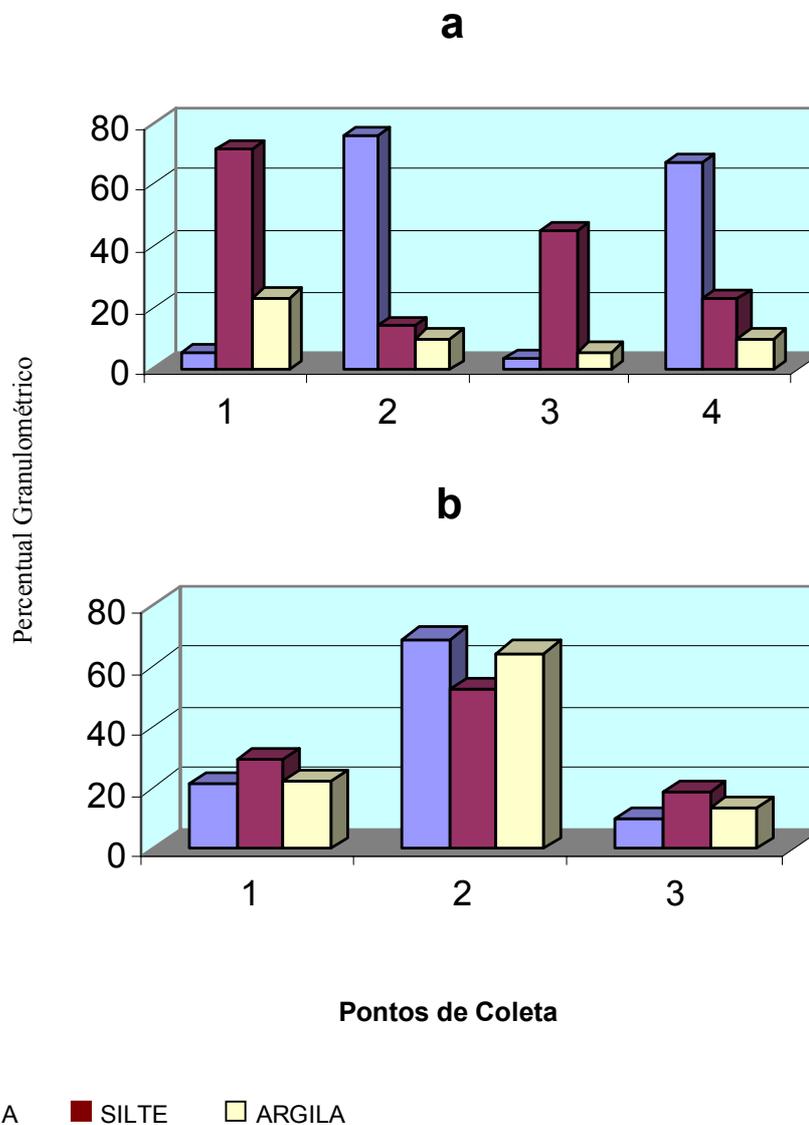


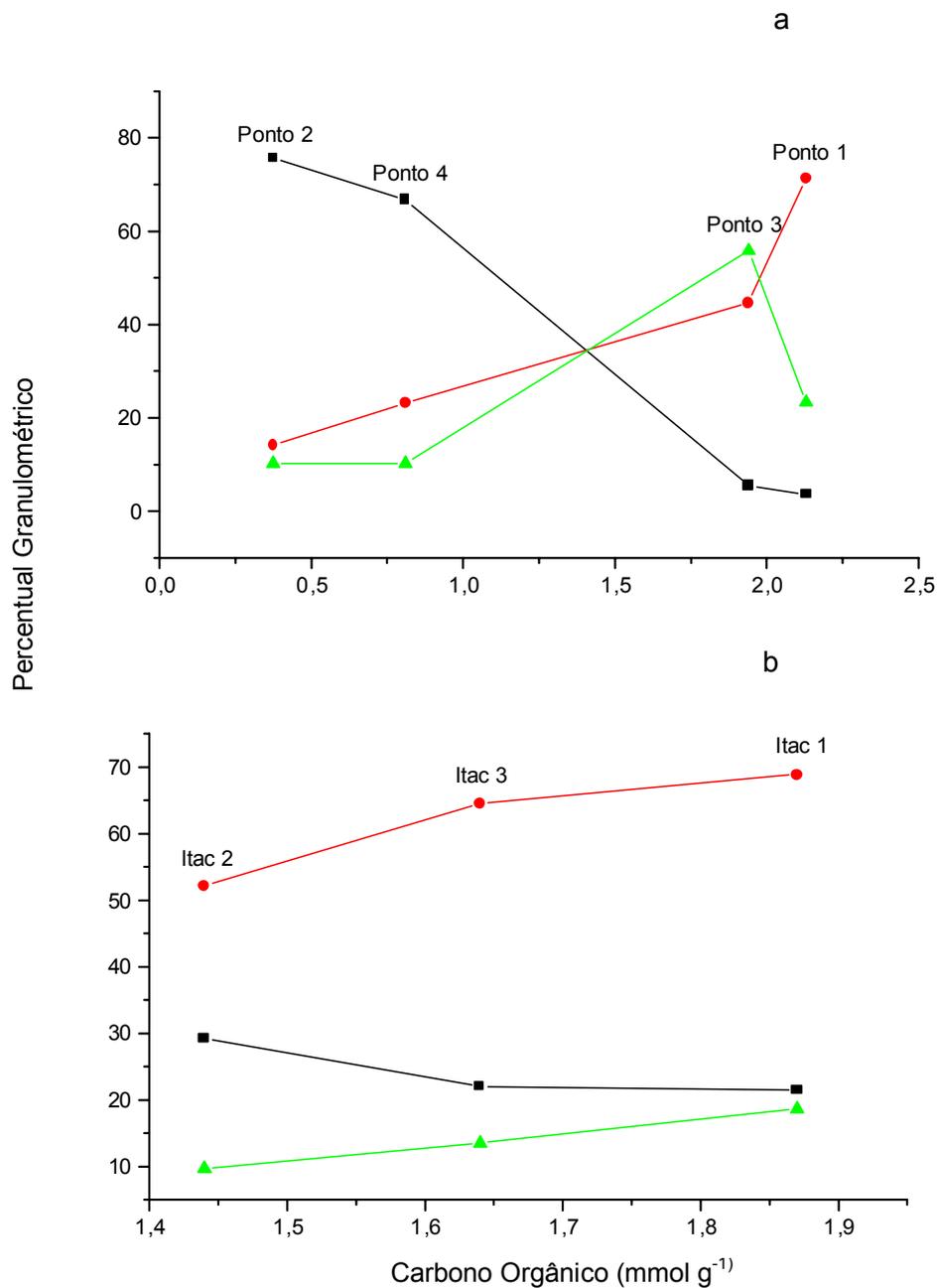
FIGURA 4 - COMPOSIÇÃO GRANULOMÉTRICA DAS AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DOS QUATRO PONTOS DE COLETA DO MANGUEZAL DE RATONES (a) E DOS TRÊS PONTOS DE COLETA DO MANGUEZAL DO ITACORUBI (b). OBSERVA-SE QUE EXISTE UMA DIVERSIDADE MAIS ACENTUADA NA COMPOSIÇÃO GRANULOMÉTRICA DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DO MANGUEZAL DE RATONES FRENTE AS TRÊS AMOSTRAS COLETADAS NO MANGUEZAL DO ITACORUBI.

Uma possibilidade de avaliação da quantidade relativa de material orgânico presente em cada fração granulométrica revelaria também se existe a tendência de adsorção de determinadas classes lipídicas ou compostos específicos em função da espécie mineral encontrada. Tal procedimento necessitaria de uma técnica de determinação granulométrica que não destruísse a porção orgânica presente.

Uma alternativa usada para normalizar os resultados nas concentrações de compostos nos sedimentos é o uso de ferramentas matemáticas, onde muitos constituintes dos sedimentos têm sido usados como parâmetros normativos, incluindo minerais argilosos, área superficial e elementos conservativos. A normalização geralmente envolve cálculos de razões e análises de regressão entre vários parâmetros (Horowitz & Elrick, 1988).

A correlação entre o teor de carbono orgânico total e a composição granulométrica para as quatro amostras de sedimento do manguezal de Ratonés (FIG. 5a) indica que o percentual de areia presente em cada amostra é inversamente proporcional ao teor de carbono orgânico. A fração silte mostrou uma forte correlação positiva com o teor de carbono orgânico para todas as amostras, assim como a fração argila. A única exceção feita envolve o ponto de amostragem 1, que apresentou valores nos percentuais de areia e argila incoerentes com o padrão de adsorção observado para os demais pontos de amostragem.

Para as três amostras de sedimento provenientes do manguezal do Itacorubi, foram observadas correlações para todas as frações granulométricas, ou seja, um aumento na concentração de material arenoso nas amostras promove uma diminuição nos teores de carbono orgânico; por outro lado, um aumento nos percentuais das frações compostas por silte e argila promove um aumento nos teores de carbono orgânico (FIG. 5b).



— AREIA

— SILTE
— ARGILA

FIGURA 5 - CORRELAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO GRANULOMÉTRICA DOS SEDIMENTOS E O TEOR DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (mmol g^{-1}) NOS QUATRO PONTOS DE COLETA DO MANGUEZAL DE RATONES (a) E DOS TRÊS PONTOS DE COLETA DO MANGUEZAL DO ITACORUBI (b). NOTA-SE QUE UM MAIOR TEOR DE CARBONO ORGÂNICO ESTÁ ASSOCIADO ÀS PARTÍCULAS DE GRANULAÇÕES MENORES (SILTE E ARGILA).

4.1.2 FÓSFORO, CARBONO E NITROGÊNIO.

A determinação das concentrações de fósforo nas amostras de sedimento foi realizada com o objetivo principal de correlacionar com os teores de carbono e nitrogênio, fornecendo os índices das razões molares entre os três elementos (C:N:P) que são usados para identificação de fontes de matéria orgânica (Redfield *et al.*, 1963). A extração do fósforo total (TP) e do fósforo inorgânico (IP) foi feita com solução ácida, sendo que a amostra empregada para análise de fósforo total teve sua matriz orgânica destruída inicialmente por calcinação. O fósforo orgânico (OP) foi determinado pela diferença entre as quantidades de fósforo total e fósforo inorgânico (Aspila *et al.*, 1976; Ruttenberg, 1992). A eficiência do método descrito é questionada por alguns autores (Monaghan *et al.*, 1999) pela possibilidade da extração da fração inorgânica de fósforo ser incompleta (superestimando o valor de OP) e pela extração de formas orgânicas de fósforo fracamente adsorvidas na fração de IP (subestimando o valor de OP). O método foi extensivamente avaliado por Ruttenberg (1992) com o uso de tecidos de plantas e sedimentos. A única observação feita é de que como a fração de OP é derivada de dois parâmetros medidos independentemente (TP e IP), existe a possibilidade de incerteza quanto à exatidão do valor de OP, especialmente se os valores de TP e de IP forem de magnitude semelhante. A variação nas concentrações de TP, IP e OP

calculado a partir dos resultados das amostras em triplicata foi menor do que 1,2%, 1,2% e 3,8%, respectivamente, sendo que o erro obtido para a fração OP foi calculado a partir da propagação dos erros absolutos de seus dois componentes individuais (TP e IP).

As concentrações de TP, IP e OP foram diferenciadas para as quatro amostras de sedimento provenientes do manguezal de Ratonés, sendo que o maior valor de concentração obtido para TP ($14,9 \mu\text{mol g}^{-1}$) foi cerca de 4,5 vezes maior do que o menor valor de concentração (TABELA 5).

TABELA 5 - CONCENTRAÇÕES DAS FRAÇÕES DE FÓSFORO TOTAL (TP), INORGÂNICO (IP), ORGÂNICO (OP), CARBONO ORGÂNICO TOTAL (TOC), NITROGÊNIO TOTAL (TN) E RAZÕES MOLARES C:N:P PARA AMOSTRAS DE SEDIMENTO PROVENIENTES DOS MANGUEZAIS DE RATONES E ITACORUBI.

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	ITAC 1	ITAC 2	ITAC 3
TP ($\mu\text{mol g}^{-1}$)*	14,90	3,33	11,90	6,76	4,21	3,23	4,16
IP ($\mu\text{mol g}^{-1}$)*	8,78	1,90	6,70	4,13	2,56	3,67	3,63
OP ($\mu\text{mol g}^{-1}$)*	6,12	1,43	5,20	2,63	0,67	0,54	0,53
TOC (mmol g^{-1}) 1)	2,13	0,37	1,94	0,81	1,87	1,49	1,64
TN (mmol g^{-1})	0,26	0,04	0,22	0,09	0,24	0,23	0,22
C:P (molar)	348	258	373	308	2791	2759	3094
C:N (molar)	8	9	9	9	8	6	7
N:P (molar)	42	28	42	34	358	426	415

* média da réplica dos resultados (n=3) DPR<3,8%

Apesar das concentrações das diferentes espécies de fósforo variarem significativamente entre as quatro amostras de sedimento em estudo (FIG. 6a), as proporções relativas entre as frações IP e OP praticamente não sofreram alterações significativas, sendo que a fração IP é responsável por cerca de 60% do fósforo total e os restantes 40% são ocupados pela fração OP. A distinção IP e OP é importante para avaliação da quantidade de fósforo

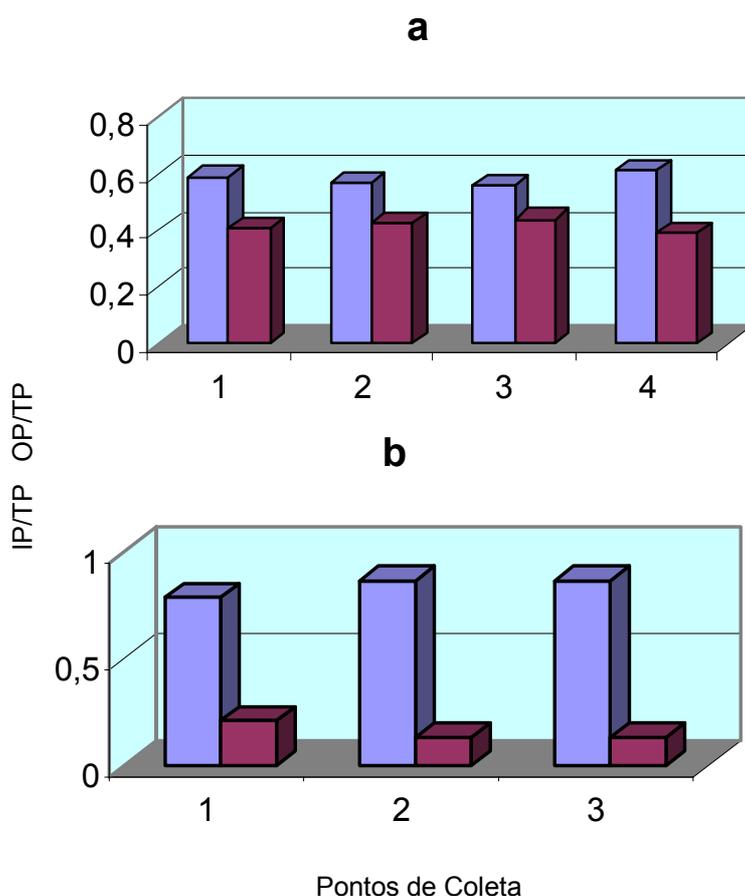
biodisponível no ambiente, bem como para avaliação de possível ocorrência de eutrofização; neste caso, também é feita a especiação das formas inorgânicas de fósforo, ligadas basicamente ao ferro, alumínio e cálcio (Silva & Toledo, 1997). As concentrações e as razões entre as espécies orgânica e inorgânica de fósforo encontradas no manguezal de Ratonos podem ser comparadas com dados obtidos de amostras de sedimento provenientes do manguezal do Itacorubi (FIG. 6b). Apesar de pertencerem ao mesmo ecossistema de manguezal, estes dois ambientes possuem características diferenciadas com referência ao nível de contaminação pela ação humana; o manguezal de Ratonos está localizado em área de preservação ambiental, representando um ambiente relativamente livre de poluentes; diferente do manguezal do Itacorubi, que se encontra sujeito à contaminação constante, em grande parte doméstica, por localizar-se na região metropolitana de Florianópolis.

Apesar das concentrações de fósforo nas amostras provenientes do manguezal do Itacorubi serem em média menores quando comparadas com amostras do manguezal de Ratonos (TABELA 5), existe uma diferenciação acentuada quanto a distribuição das espécies inorgânica e orgânica de fósforo (FIG. 6).

Enquanto que a média ocupada pela fração inorgânica de fósforo nas amostras de sedimento do manguezal de Ratonos representou cerca de 60% da fração total, nas amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi este percentual médio assumiu um valor de 85%. Apesar deste índice revelar uma possível contaminação por efluentes domésticos, a avaliação do potencial dos sedimentos liberarem quantidades significativas de fósforo para a fase aquosa (causando a chamada eutrofização) só é permitida a partir da determinação da relação entre a composição do sedimento e o fosfato a ele ligado (Silva &

Toledo, 1997).

A causa mais provável da diferença nas concentrações de fósforo entre os pontos de estudo de um mesmo ambiente é a variação na composição granulométrica das amostras. Assim como para a matéria orgânica, as diferentes formas de fósforo também são adsorvidas preferencialmente por certos tipos de minerais. Os resultados indicam que a concentração de fósforo



está correlacionada diretamente com a fração granulométrica silte e correlacionada negativamente com a fração areia. Não foi observada correlação entre a concentração de fósforo e a fração argila (FIG. 7). A observação da não existência de correlação entre as frações de fósforo e a argila deve ser avaliada em termos dos processos biogeoquímicos que atuam na fixação fósforo às partículas do sedimento e de sua natureza mineralógica (Silva & Toledo, 1997).

- Razão entre concentrações de Fósforo Inorgânico e Fósforo Total
- Razão entre concentrações de Fósforo Orgânico e fósforo Total

FIGURA 6 - DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES INORGÂNICA E ORGÂNICA DE FÓSFORO FRENTE À CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO TOTAL AMOSTRAS DE SEDIMENTOS PROVENIENTES DO MANGUEZAL DE RATONES (a) E DO ITACORUBI (b).

As razões molares C:P, C:N e N:P foram muito semelhantes para os quatro pontos analisados no manguezal de Ratones (TABELA 5). Vale citar que segundo Redfield, a composição do material orgânico de natureza essencialmente marinha é C:N:P=106:16:1. A medida em que a matéria orgânica marinha é enriquecida com material orgânico de origem terrestre, estes valores elevam-se devido ao empobrecimento relativo da fração de fósforo e do aumento da fração de carbono. O ponto 2 apresentou as menores razões molares C:P e N:P, seguido pelo ponto 4. Os valores menores de tais razões podem ser um indicativo de empobrecimento da fração orgânica de fósforo frente às outras duas amostras. Este resultado é coerente com a composição granulométrica apresentada, onde os pontos com menor teor de matéria orgânica foram os que apresentaram maior caráter arenoso (pontos 2 e 4). As razões C:N:P indicam que a matéria orgânica em estudo é composta pela mistura de elementos marinhos e terrestres (em consistência com os resultados da análise dos extratos lipídicos).

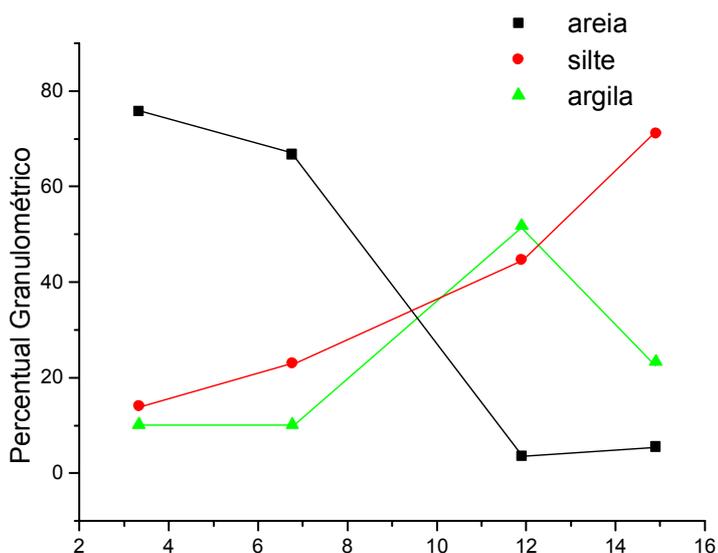


FIGURA 7 - CORRELAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO GRANULOMÉTRICA E A CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO TOTAL, MANGUEZAL DE RATONES. OBSERVA-SE CLARAMENTE QUE A MEDIDA EM QUE A CONCENTRAÇÃO DE TP AUMENTA (EIXO X) O TEOR DE SILTE (LINHA VERMELHA) SEGUE A MESMA TENDÊNCIA; A CORRELAÇÃO OPOSTA É FEITA COM A FRAÇÃO AREIA (LINHA PRETA). A FRAÇÃO ARGILA (LINHA VERDE) NÃO CORRELACIONOU-SE LINEARMENTE COM TP.

A razão molar C:N não apresentou variação significativa entre os pontos analisados em ambos manguezais, devido ao fato de que as concentrações de carbono orgânico e nitrogênio total também serem muito próximas para todos os pontos analisados. Os valores das razões C:P e N:P para as amostras de sedimento do manguezal de Ratonés foram respectivamente cerca de 27 e 11 vezes maiores quando comparados aos mesmos valores obtidos para as amostras de sedimento do manguezal do Itacorubi. O grande fator responsável por tal diferenciação foi a variação na concentração da fração orgânica de fósforo, que se apresentou muito menor nas amostras provenientes do manguezal do Itacorubi.

4.1.3 Extrato Lipídico

F1: hidrocarbonetos alifáticos

Os hidrocarbonetos alifáticos (alcanos) presentes na fração neutra (F1) foram identificados pela técnica de CG/EM a partir do fragmentograma m/z 85. Todos os pontos analisados apresentaram séries homólogas de alcanos com número de átomos de carbono variando entre 20 e 35. Observou-se a forte predominância das cadeias com números ímpares de carbono sobre as cadeias com números pares, com um máximo de C_{29} e C_{31} (FIG. 9). A concentração total dos alcanos variou entre 0,19 e 1,01 $\mu\text{g g}^{-1}$ de sedimento seco (TABELA 6).

A distribuição molecular foi caracterizada pelo cálculo do IPC_{HA} , determinado a partir das áreas dos picos obtidos dos cromatogramas. Os altos valores observados para os pontos 1, 3 e 4 (TABELA 6) indicam que a composição lipídica contém uma grande parcela de matéria orgânica proveniente de plantas superiores terrestres (Eglinton *et al.*, 1967). Em geral, a distribuição dos alcanos provenientes de ceras epicuticulares de plantas superiores tem um máximo em cadeias com 27 ou 29 átomos de carbono, com altos valores de IPC (superiores a 5), ocasionado pelo forte predomínio de cadeias com números ímpares de carbono sobre cadeias com números pares (Rieley *et al.*, 1991). O valor de IPC calculado para o ponto 2 foi cerca da metade dos valores obtidos para os demais pontos. Nesta fração, a concentração de hidrocarbonetos com cadeias longas apresentou-se bastante reduzida, sem um predomínio acentuado das cadeias com números ímpares de carbono sobre as com números pares. Uma explicação possível para tal distinção no valor de IPC encontrado para o ponto 2 leva em consideração sua composição granulométrica (item 3.1.1), que por conter grande percentual de areia apresenta naturalmente menos matéria orgânica adsorvida. Assim, existe a possibilidade da fração lipídica extraída ser derivada de uma mistura menos rica em plantas terrestres em relação ao fitoplâncton e biomassa

microbiológica, resultando em uma menor predominância ímpar/par nas cadeias carbônicas (Tissot & Welte, 1984).

TABELA 6 - RESULTADOS ANALÍTICOS PARA ALCANOS, ÁLCOOIS E ÁCIDOS LINEARES DETECTADOS NAS AMOSTRAS DE SEDIMENTO DO MANGUEZAL DE RATONES, PONTOS 1, 2, 3 E 4.

Pontos de Coleta	1	2	3	4
Alcanos* totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)	10,09	0,19	1,92	3,32
IPC _{HÁ}	6,3	3,1	7,1	6,9
Álcoois* totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6,94	1,85	2,35	3,43
IPC _{OH}	7,9	4,0	6,2	4,02
Ácidos* totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)	7,69	3,51	6,05	4,02
IPC _{AC}	4,2	1,9	3,7	4,2
RTA _{AC}	0,74	0,12	0,72	0,42

* : alcanos, álcoois e ácidos de cadeias lineares e saturadas

Não foi possível o cálculo dos valores de RTA para a fração dos hidrocarbonetos, pois não foram quantificados os compostos de cadeias com 15, 17 e 19 átomos de carbonos necessários para o cálculo.

O alcano nonacosano (C₂₉) foi predominante nas frações neutras das amostras 1, 3 e 4 (FIG. 8) enquanto que na amostra número 2, o pentacosano (C₂₅) atingiu valor máximo. Além das séries homólogas de alcanos, é visível a presença de outros compostos, possivelmente séries homólogas de hidrocarbonetos ramificados ou insaturados (FIG. 8). A identificação de tais compostos via espectrometria de massas torna-se difícil visto a grande semelhança dos espectros e a falta de fragmentos específicos.

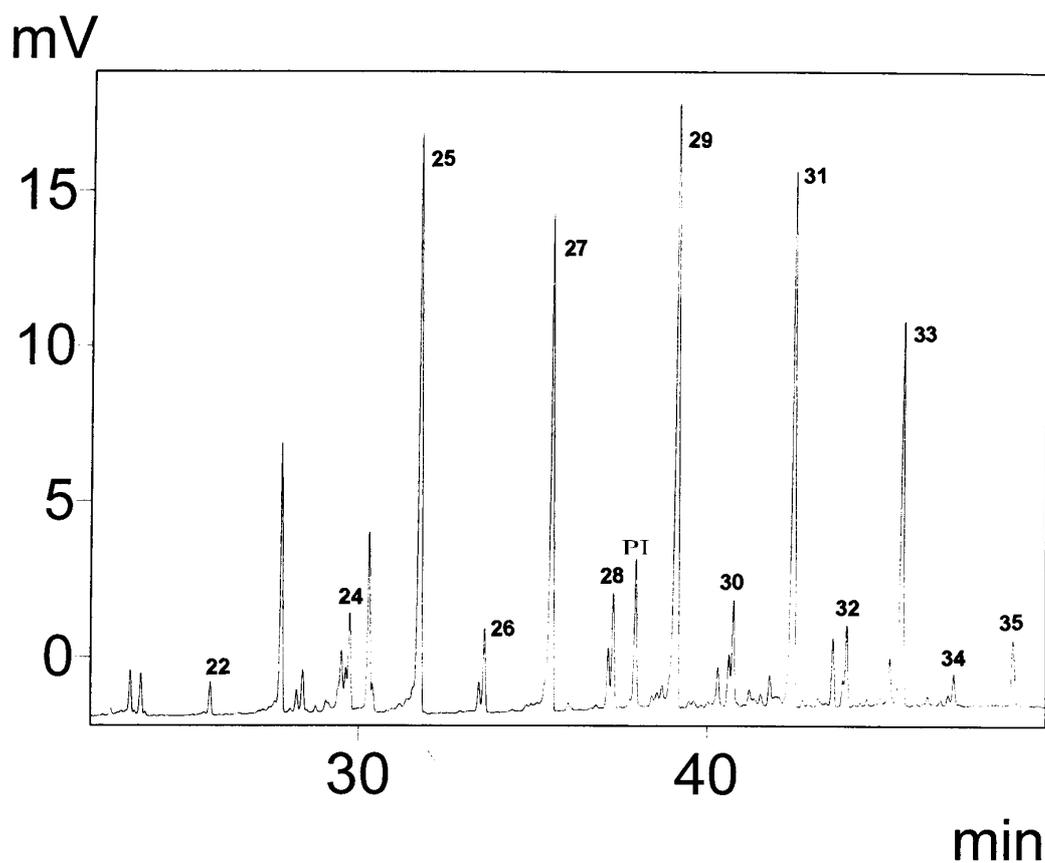


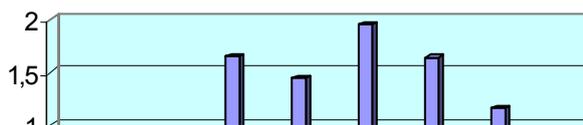
FIGURA 8 - CROMATOGRAMA PARCIAL DA FRAÇÃO NEUTRA (F1) CONTENDO A DISTRIBUIÇÃO DOS HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS, PONTO 1 DO MANGUEZAL DE RATONES.

PI: PADRÃO INTERNO 5- α -COLESTANO.

OS NÚMEROS SOBRE OS PICOS INDICAM O NÚMERO DE ÁTOMOS DE CARBONO NA CADEIA

OBSERVA-SE QUE A DISTRIBUIÇÃO MOLECULAR APRESENTA O PREDOMÍNIO ÍMPAR/PAR NAS CADEIAS CARBÔNICAS, TÍPICA DE PLANTAS SUPERIORES TERRESTRES.

Ponto 1



Ponto 4

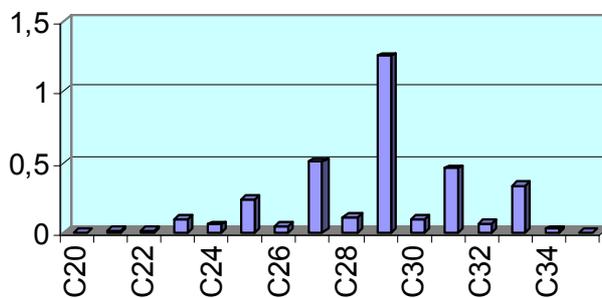


FIGURA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS PRESENTES NAS FRAÇÕES F1 DOS SEDIMENTOS ANALISADOS NOS PONTOS 1, 2, 3 E 4 DO MANGUEZAL DE RATONES.

F3: álcoois alifáticos e esteróis

Os álcoois alifáticos presentes na terceira fração (F3) foram identificados pelo fragmentograma m/z 75. A distribuição molecular (FIG. 10) tem como compostos predominantes nas quatro amostras os álcoois octacosanol (C₂₈) e triacontanol (C₃₀).

Álcoois alifáticos provenientes de ceras epicuticulares de plantas superiores geralmente apresentam cadeias com átomos de carbono variando entre 20 e 30, com máximos entre C₂₄ e C₃₀, com predominância das cadeias com número par de átomos de carbono sobre as de número ímpar (Rieley *et al.*, 1991). A concentração total mínima dos álcoois foi de 1,85 µg g⁻¹ e a máxima foi de 6,94 µg g⁻¹ (TABELA 6).

Os valores de IPC_{OH} foram mais altos para os pontos 1, 3 e 4 (TABELA 6) refletindo, assim como para os alcanos, o predomínio de matéria orgânica de origem terrestre. Assim como para os hidrocarbonetos, o ponto 2 apresentou valores inferiores de IPC, já discutidos anteriormente.

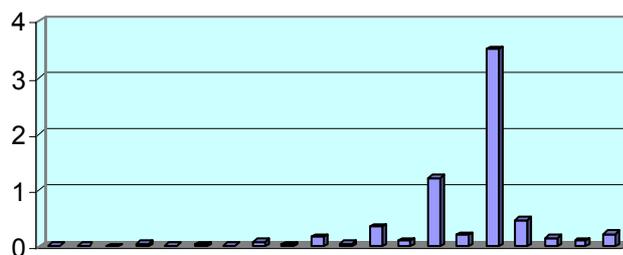
As séries de álcoois podem ser separadas em duas distribuições distintas (de C₁₆ até C₂₁ e de C₂₂ até C₃₂), sempre com a forte predominância par/ímpar (Cranwell, 1987). Esta distribuição bimodal observada nas amostras de sedimento pode ter origem em duas fontes de matéria orgânica: plantas superiores terrestres, que contribuem em sua maioria com cadeias de C₂₂ a C₃₀ e plantas inferiores e microrganismos aquáticos, que contribuem com cadeias

de C₁₄ a C₁₆ (Weete, 1976).

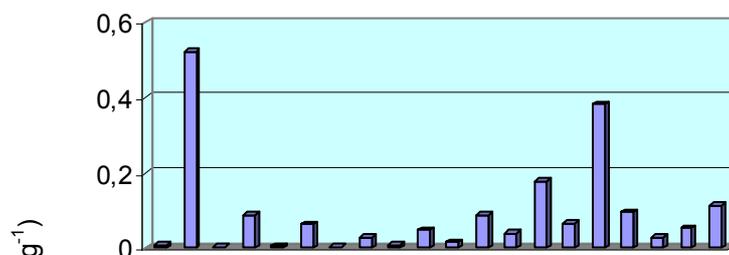
A análise da distribuição molecular dos álcoois nos quatro pontos (FIG. 10) mostra que a primeira série de compostos originada por fontes marinhas, representa uma fração inferior à segunda série, que tem sua origem principalmente em fontes terrestres (plantas superiores). Um aumento na concentração dos álcoois pertencentes ao grupo de cadeias curtas (C₁₆ a C₂₀) foi observado no ponto 2, indicando em uma primeira análise que existe uma contribuição maior de material orgânico marinho neste ponto. De fato, os valores encontrados para as concentrações dos demais álcoois nesse ponto foram muito baixos, o que indica uma menor contribuição de material proveniente de fontes terrestres.

Foram encontrados indícios da presença de compostos da série dos esteróis. No cromatograma (FIG. 11) percebem-se com nitidez vários outros compostos além da série de álcoois, principalmente aqueles situados na faixa de tempo de retenção entre 40 e 50 minutos. A identificação de tais compostos tornou-se muito difícil, pois a análise através da técnica de CG/EM fornece cromatogramas com menor resolução, acarretando sobreposição de inúmeros picos (especialmente na faixa de eluição dos esteróis) e conseqüentemente espectros de massas com fragmentos pertencentes a mais de um composto (impossibilitando a identificação até mesmo do peso molecular). Tentou-se minimizar o problema com o uso das mesmas condições operacionais entre o cromatógrafo à gás/espectrômetro de massas (empregado na identificação molecular) e o cromatógrafo à gás de alta resolução (empregado na quantificação molecular). Uma solução proposta é uma nova separação (em microcoluna ou cromatografia delgada) da fração que contém os álcoois e os esteróis antes da análise cromatográfica. Este recurso possivelmente será aplicado em estudos subsequentes no grupo de pesquisa.

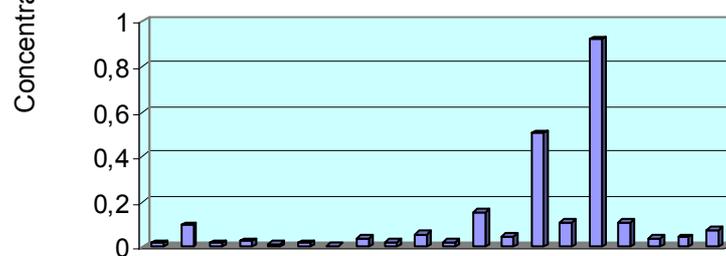
Ponto 1



Ponto 2



Ponto 3



Ponto 4

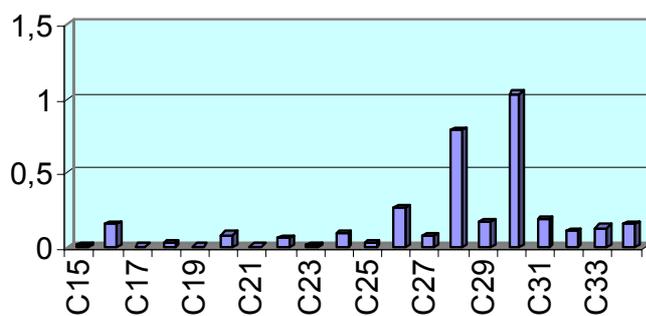


FIGURA 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS ÁLCOOIS ALIFÁTICOS PRESENTES NAS FRAÇÕES F3 DOS SEDIMENTOS ANALISADOS NOS PONTOS 1, 2, 3 E 4.

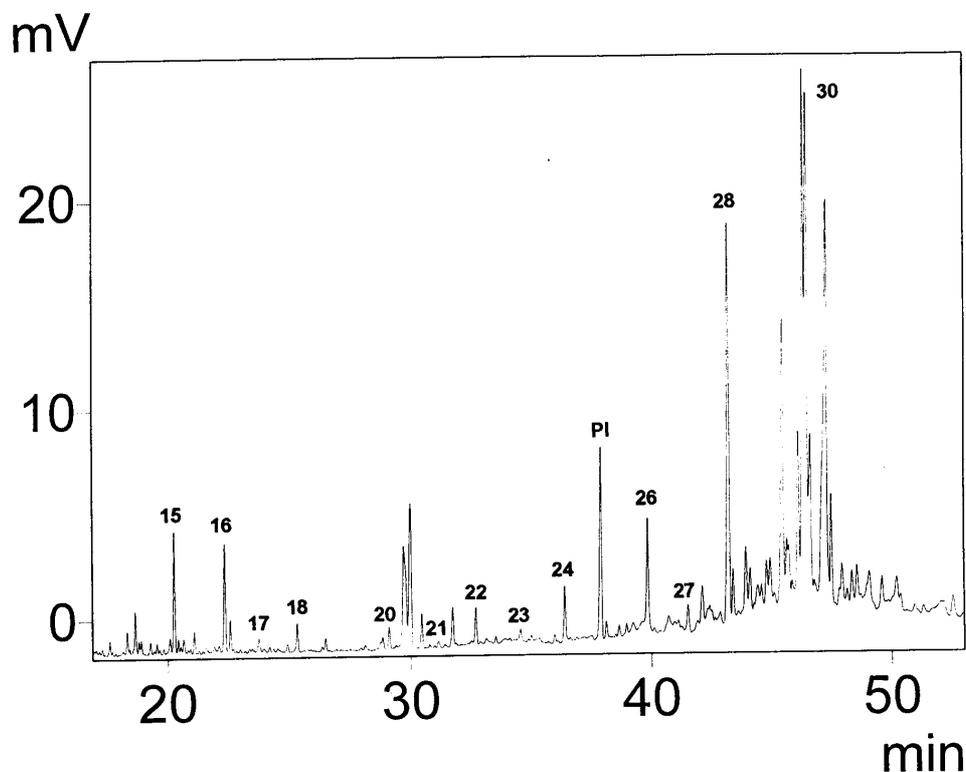


FIGURA 11 - CROMATOGRAMA PARCIAL DA FRAÇÃO CONTENDO OS ÁLCOOIS (F3), PONTO 1 DO MANGUEZAL DE RATONES.

PI: PADRÃO INTERNO 5- α -COLESTANO.

OS NÚMEROS SOBRE OS PICOS INDICAM O NÚMERO DE ÁTOMOS DE CARBONO NA CADEIA

Os compostos da série dos esteróis identificados por espectrometria de massas foram o colesterol (colest-5-en-3 β -ol), o β -sitosterol (24-etilcolest-5-en-3 β -ol), e o estigmasterol (24-etilcolesta-5,22-dien-3 β -ol). Nos sedimentos marinhos, a maior fonte de colesterol é proveniente de paletas fecais do zooplâncton (Volkman *et al.*, 1980). O colesterol também pode ser resultado de transformações feitas pelo fitoplâncton a partir de outros esteróis produzidos por algas, observado em maior escala no material marinho particulado (Volkman, 1986). O sitosterol é usado por alguns autores como

marcador de fonte de matéria orgânica terrestre (Gagosian *et al.* , 1983) e como indicativo de produção fitoplanctônica. Considerando-se o tipo de ambiente em estudo, o grande aporte de matéria orgânica proveniente de fontes terrestres provavelmente é o maior responsável pela presença de tais esteróis. O estigmasterol também tem origem em plantas superiores terrestre e em espécies específicas do fitoplâncton marinho. A importância relativa das duas possíveis fontes de estigmasterol e sitosterol depende do tipo de ambiente em estudo, a proximidade do local das fontes de matéria orgânica terrestre e a quantidade e tipo de fitoplâncton encontrado (Volkman, 1986).

F4: ácidos carboxílicos

Os ácidos alifáticos foram identificados sob a forma de ésteres metílicos a partir do fragmentograma m/z 74. A classe dos ácidos foi a que se apresentou em maior concentração frente às outras classes lipídicas quantificadas nas amostras de sedimento. A concentração total dos ácidos variou entre 3,51 e 7,69 $\mu\text{g g}^{-1}$ de sedimento seco (TABELA 6).

A distribuição molecular dos ácidos mostrou-se semelhante para as quatro amostras analisadas (FIG. 12), tendo como composto predominante o ácido hexadecanóico (C_{16}) e o ácido octacosanóico (C_{28}). Assim como para os álcoois, foi novamente observada uma distribuição bimodal com a primeira série contendo cadeias entre 14 e 18 átomos de carbono e a segunda série contendo cadeias com 24 a 30 átomos de carbono.

Os ácidos com cadeias curtas (primeira distribuição) são considerados originários tanto de fontes marinhas como terrestres. Visto que o ácido hexadecanóico (C_{16}) pode ocorrer em muitos organismos diferentes,

como algas, bactérias e fungos, é difícil assegurar que todo componente encontrado seja apenas de uma fonte específica (Rieley *et al.*, 1991). Ao contrário, a distribuição entre cadeias ácidas longas (segunda série) tem sua origem em fontes terrestres, tipicamente com concentrações máximas em C₂₆ ou C₂₈ (matéria orgânica proveniente de ceras epicuticulares de plantas superiores terrestres).

Nos quatro pontos analisados, a série de ácidos de cadeias curtas apresentou concentração superior a série de ácidos de cadeias longas, sendo que o ponto 2 foi o que apresentou esta tendência em maior proporção. Os valores de IPC para os ácidos foram inferiores aos valores observados nas frações dos alcanos e álcoois, com a semelhança de novamente o ponto 2 apresentar os menores valores. A distribuição entre cadeias ácidas com 16 a 18 átomos de carbono (fonte marinha ou continental) apresentou concentração superior à distribuição entre cadeias ácidas com 24 a 30 átomos de carbono (apenas fonte terrestre).

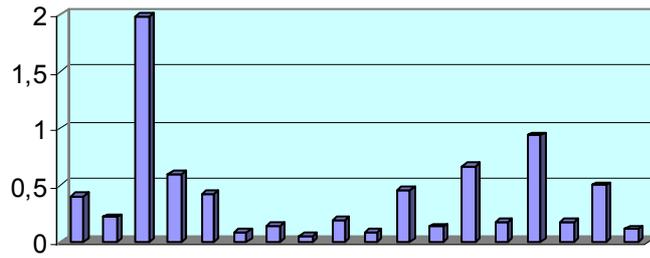
A análise do valor de IPC isoladamente não é suficiente para a indicação do predomínio de fontes marinhas ou terrestres, visto que este índice considera apenas a distribuição relativa entre cadeias par-ímpares na faixa de C₂₁ a C₃₁. O valor de IPC para os hidrocarbonetos, por exemplo, é um indicativo útil usado na detecção da presença de combustíveis fósseis e em estudos ambientais, revela se existe a contaminação pelos mesmos. Para os casos de alcanos de origem antropogênica e compostos derivados do petróleo/querogênio e pirólise, a preferênica ímpar/par não existe (Madureira *et al.*, 1995). Para a fração ácida foi possível o cálculo da razão terrestre/aquática (RTA). Os valores, apresentados na TABELA 6, servem como comparativos entre as concentrações dos ácidos de cadeias carbônicas curtas (C₁₂, C₁₄ e C₁₆) de cadeias longas (C₂₄, C₂₆ e C₂₈).

A fração dos ácidos mostra claramente a distinção entre os valores de IPC e de RTA. Para o primeiro índice, os valores obtidos para as amostras de sedimento dos quatro pontos de amostragem do manguezal de Ratonés acusaram apenas uma variação para o ponto 2, sendo que os restantes apresentaram valores próximos. Ao contrário, os valores de RTA obtidos para as mesmas amostras indicaram valores diferenciados para os pontos 2 e 4, enquanto que os pontos 1 e 3 apresentaram valores próximos (Tabela 5).

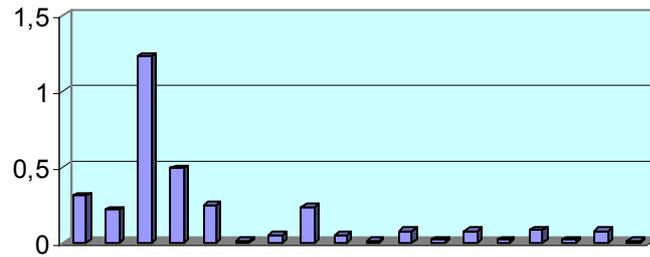
A visualização da distribuição molecular dos ácidos (FIG. 12) mostra claramente que o ponto 2 apresentou um grande predomínio de ácidos de cadeias curtas sobre os pares, confirmado pelo baixo valor de RTA. Este valor caracteriza o predomínio de fontes marinhas de matéria orgânica. Apesar dos pontos 1 e 4 apresentarem os mesmos valores de IPC (4,2) os valores de RTA indicaram que no ponto 1 a matéria orgânica tem uma composição mais igualitária entre as fontes terrestres e marinhas. Esta mesma característica é observada para o ponto 3.

Tal distinção também pode ser relacionada com a localização dos pontos de coleta. O ponto 1, por localizar-se na região de delta, recebe contribuições de matéria orgânica marinha e terrestre muito mais pronunciadamente do que pontos localizados em regiões mais distantes do mar, que recebem contribuição de matéria orgânica marinha por influência da maré. Os pontos 3 e 4 apesar de estarem localizados às margens do curso d'água, apresentaram concentrações relativamente altas de ácidos de cadeias curtas, indicando que também sofrem influência da deposição de sedimentos marinhos.

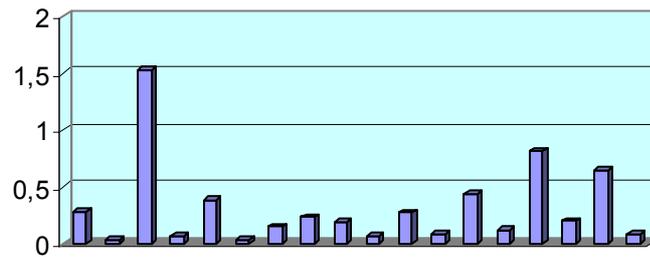
Ponto 1



Ponto 2



Ponto 3



Ponto 4

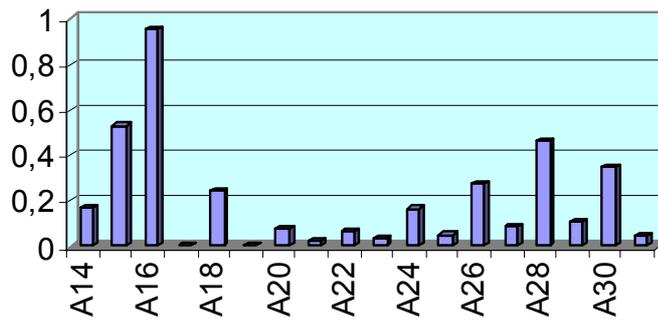


FIGURA 12 - DISTRIBUIÇÃO DOS ÁCIDOS ALIFÁTICOS PRESENTES NAS FRAÇÕES F4 DOS SEDIMENTOS ANALISADOS NOS PONTOS 1, 2, 3 E 4 DO MANGUEZAL DE RATONES

Outros Biomarcadores Presentes nos Sedimentos

Além das séries homólogas saturadas de alcanos, álcoois e ácidos foram identificados outros compostos através de seus respectivos espectros de massas. Na fração dos ácidos (F4) foram identificados vários ácidos insaturados, incluindo os ácidos octadecatrienóico e eicosatetraenóico, ambos nas formas de metil éster (Anexo). O ácido palmitoleico (16:1) é um dos maiores indicadores de diatomáceas, sendo que sua concentração relativa pode indicar a importância de contribuição de matéria orgânica desta classe marinha. Algas unicelulares verdes sintetizam tipicamente grandes quantidades de ácidos graxos 18:1, 18:2 e 18:3, contendo também quantidades significativas do ácido 16:4. As cianobactérias produzem diferentes tipos de ácidos, algumas espécies contêm os ácidos 16:0 e 16:1 como maiores componentes, enquanto que outras contêm grandes quantidades do ácido 18:1 (Volkman, 1986). Ácidos carboxílicos lineares ramificados iso e anteiso com 14, 15, 16 e 17 átomos de carbono também foram identificados. Tais ácidos também se encontraram em trabalhos anteriores (Rodrigues- Neto, 1998), sendo constituintes da parede celular de bactérias (Tissot & Welte, 1984; Cranwell *et al.*, 1987; Killops & Killops, 1993).

Não foram encontrados hidrocarbonetos hopanóides (fragmentograma m/z 191). Essa família de compostos é geralmente produzida em ambientes marinhos por bactérias, podendo também ser indicativo de contaminação por combustível fóssil (Rohmer *et al.*, 1984).

Compostos derivados da transformação diagenética de cetonas

insaturadas de cadeias longas foram identificados (Anexo). Os compostos originários são derivados de plantas superiores (Bosch *et al.*, 1998).

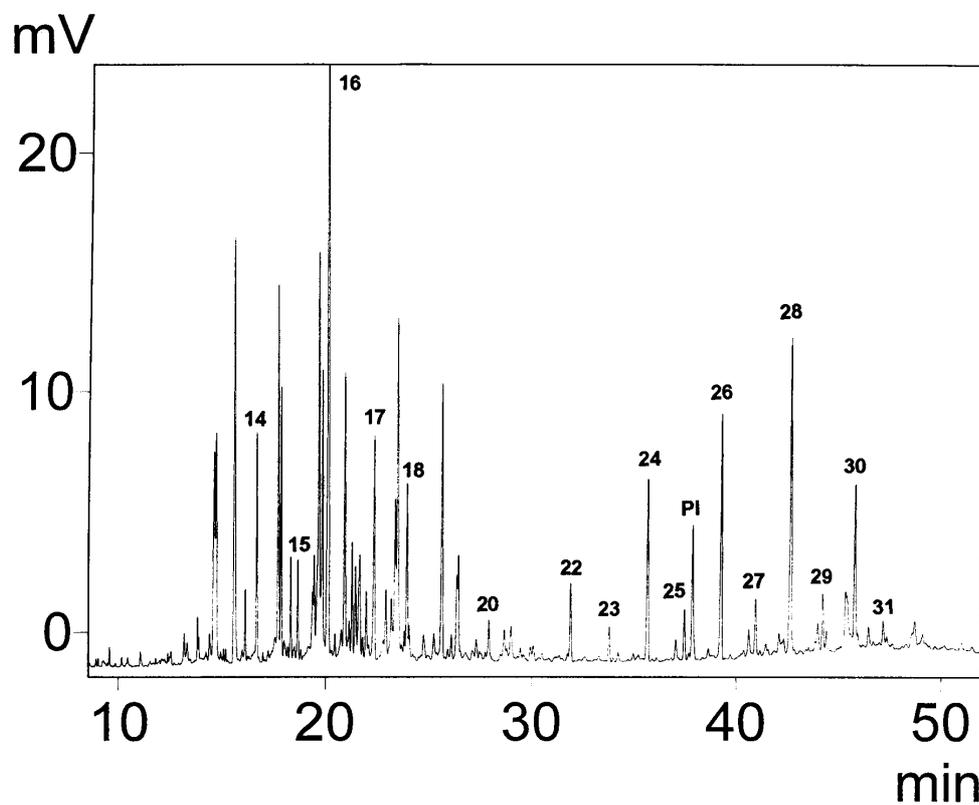


FIGURA 13 - CROMATOGRAMA PARCIAL DA FRAÇÃO CONTENDO OS ÁCIDOS (F4), PONTO 1 DO MANGUEZAL DE RATONES.

PI: PADRÃO INTERNO 5- α -COLESTANO.

OS NÚMEROS SOBRE OS PICOS INDICAM O NÚMERO DE ÁTOMOS DE CARBONO NA CADEIA

4.2 MATERIAL PARTICULADO

4.2.1 Extrato Lipídico

As amostras de material particulado não tiveram seus extratos lipídicos fracionados devido principalmente a baixa concentração de matéria orgânica encontrada. Devido a sobreposição de picos, principalmente por ácidos (FIG. 14 e 15), não foi possível a quantificação de inúmeros compostos identificados anteriormente nas frações lipídicas isoladas das amostras de sedimento. As séries homólogas dos três principais grupos lipídicos (alcanos, álcoois e ácidos) não foram quantificadas completamente (TABELA 7).

Basicamente, os compostos lipídicos identificados nas amostras de sedimento foram semelhantes aos encontrados nas amostras de material particulado. Esta observação é coerente com o fato de que o material que chega a alcançar o sedimento é uma combinação de compostos produzidos na coluna d'água e de compostos introduzidos na mesma por outras fontes (Stuart & Lee, 1989). Assim como no sedimento, os ácidos encontram-se em maior concentração frente aos outros grupos lipídicos, servindo da mesma maneira como indicativo da origem de produção de material orgânico.

A concentração lipídica total (apenas dos compostos relatados na TABELA 7) foi superior para o ponto de amostragem PN em seis das oito datas de coleta de amostras (FIG. 16). É interessante notar que a distribuição relativa entre os compostos manteve-se semelhante para ambos os pontos de coleta, com variação apenas nas concentrações absolutas. Sabe-se que a

composição química e a quantidade de material particulado em águas estuarinas é resultado de um complexo conjunto de interações envolvendo processos biológicos de produção e consumo, e processos físicos, incluindo agregação, desagregação e transporte das partículas (Wakeham & Lee, 1989). Levando em consideração este aspecto, as possíveis explicações para as observações experimentais envolvem basicamente a localização dos dois pontos de coleta (FIG. 2 e 3). O ponto PN está localizado em uma área sujeita a variações mais pronunciadas de mudança da maré, visualmente com maior vazão e fluxo d'água conturbado.

Possivelmente existe uma contribuição maior de material particulado proveniente do mar e de uma fonte considerada como adicional, o sedimento. Em adição às fontes de material particulado já mencionadas, outra fonte interna de material orgânico marinho é o próprio sedimento marinho (Simoneit, 1978).

Embora o sedimento atue como um captador para o material particulado, em algumas situações ele pode atuar como uma importante fonte do mesmo, através de sua ressuspensão (Millero, 1996). No ponto de amostragem PV, observa-se um alargamento do leito do rio, provocando a diminuição da vazão e um fluxo de água sem conturbação. Nesse local, pode-se esperar que o material particulado seja depositado em maiores quantidades no sedimento, diminuindo sua concentração em suspensão.

TABELA 7 - LIPÍDIOS QUANTIFICADOS NAS AMOSTRAS DE MATERIAL PARTICULADO ($\mu\text{g g}^{-1}$) NOS PONTOS DE COLETA PN E PV, MANGUEZAL DE RATONES.

	21/03/00		30/04/00		18/05/00		21/06/00		04/07/00		20/08/00		10/09/00		11/10/00	
	PN	PV														
A14	3,39	7,20	4,12	3,72	8,28	6,52	6,64		33,70		15,35	0,12	6,75	2,53	4,86	3,18
A15	2,88	1,58	1,21	0,95	1,13	1,33	1,16	5,50	5,81	4,78	3,14	0,86	2,44	1,39	0,78	0,81
A16	20,39		11,01		18,84		13,71		68,58		26,57	2,24	17,52	7,31	11,88	9,66
A17	0,52	-	0,38	-	-	-	0,33	0,46	1,66	0,26	-	2,42	9,03	4,52	0,24	0,24
A18	6,44	3,99	3,89	3,70	7,46	5,24	3,21		16,09		10,84	2,62	5,69	3,04	2,70	2,86
C22	0,10	0,37	0,33	0,05	0,04	0,13	-	-	-	-	-	-	0,13	-	0,08	-
OH19	7,25	8,53	5,63	2,76	-		7,99		39,99		23,27	1,27	11,27	5,68	5,28	2,58
A20	0,57	0,58	0,24	0,31	0,40	0,37	0,19	0,75	0,95	0,54	0,61	0,11	0,49	0,19	0,14	0,16
OH20	-	0,17	0,01	-	0,25	0,15	0,01	0,01	0,05	-	-	-	0,03	0,02	0,01	-
OH21	0,10	-	0,06	-	0,07	0,05	0,05	0,34	0,28	0,33	0,37	-	-	0,05	0,06	0,12
A22	0,31	0,30	0,17	0,16	0,18	0,15	0,10	0,42	0,54	-	0,34	0,61	0,24	0,13	0,04	0,10
OH22	0,50	0,18	0,17	0,04	0,17	0,11	-	-	-	-	0,03	-	0,22	0,04	-	0,14
A23	0,18	0,22	0,06	0,09	0,10	0,25	0,03	0,12	0,16	-	0,19	-	0,23	0,08	-	0,22
OH23	-	0,02	0,01	-	0,01	-	-	-	-	-	-	-	0,09	-	-	-
A24	0,54	0,50	0,30	0,35	0,36	0,33	0,24	0,89	1,21	0,54	0,80	0,08	0,54	0,19	0,18	0,22
OH24	0,14	0,07	0,06	0,06	0,05	0,10	-	-	-	-	-	0,12	0,37	0,02	-	0,03
A25	-	0,09	0,09	0,05	0,06	0,02	0,04	0,14	0,21	-	0,25	-	0,03	0,15	0,14	0,08
AH25	-	-	0,04	0,07	0,01	0,01	-	0,16	-	0,21	0,12	-	-	-	0,02	-
OH26	0,08	0,02	-	0,03	0,03	0,09	-	-	-	-	-	-	0,42	0,04	-	-
A27	0,12	0,05	-	0,04	0,03	0,03	0,02	0,12	0,11	-	0,08	-	0,05	0,05	0,02	0,02
A28	0,27	0,32	0,25	0,24	0,35	0,28	0,25	1,23	1,28	0,46	0,76	0,13	0,65	0,62	0,32	0,16
A29	0,17	0,10	0,06	0,59	0,04	0,03	0,09	0,37	0,45	-	0,20	-	0,20	0,13	0,04	0,04
A30	0,36	0,37	0,24	0,24	0,18	0,31	0,21	1,47	1,06	0,48	0,52	0,09	0,92	0,29	0,18	0,16
A31	-	0,08	0,04	0,06	0,03	0,01	0,04	-	0,22	-	0,18	-	-	0,06	0,02	0,02

A_n: ácido cadeia linear saturada, com n átomos de carbono
 OH_n: álcool cadeia linear saturada, com n átomos de carbono
 C_n: alceno cadeia linear saturada, com n átomos de carbono

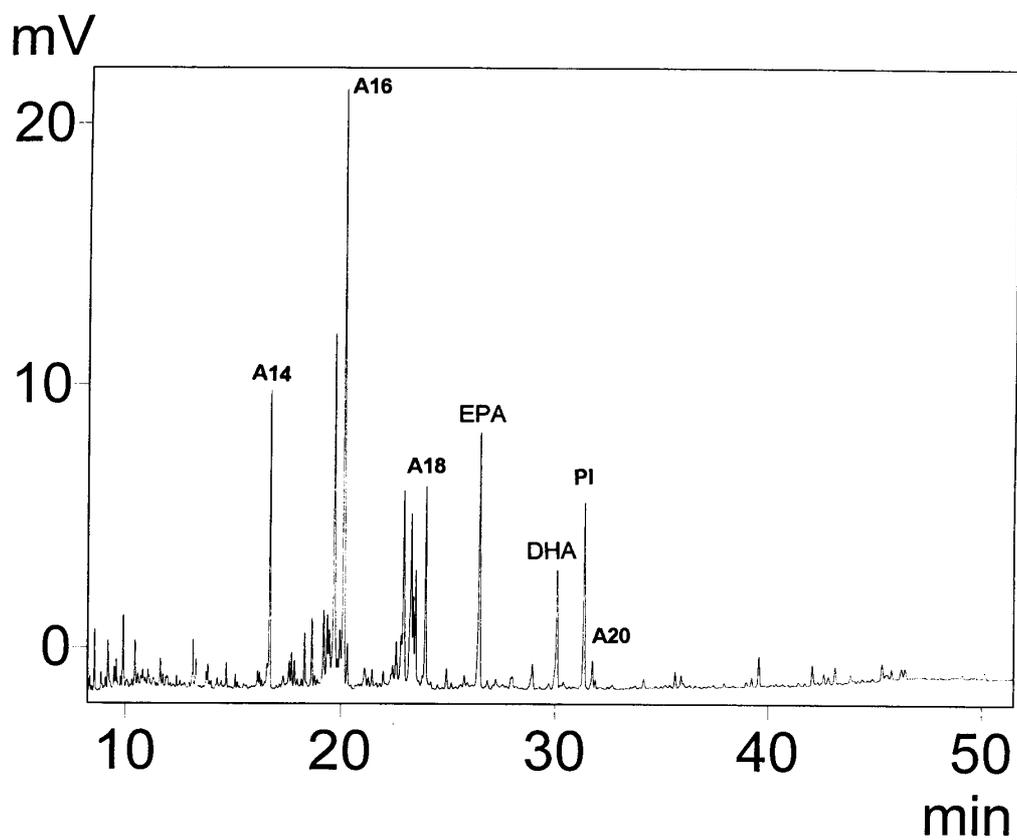


FIGURA 14 - CROMATOGRAMA PARCIAL DO EXTRATO LIPÍDICO DE AMOSTRA DE MATERIAL PARTICULADO PROVENIENTE DO MANGUEZAL DE RATONES, PONTO DE AMOSTRAGEM PN.

PI: PADRÃO INTERNO $A_{22:1}$ (NA FORMA DE METIL ÉSTER).

A_N : ÁCIDO ALIFÁTICO COM N ÁTOMOS DE CARBONO.

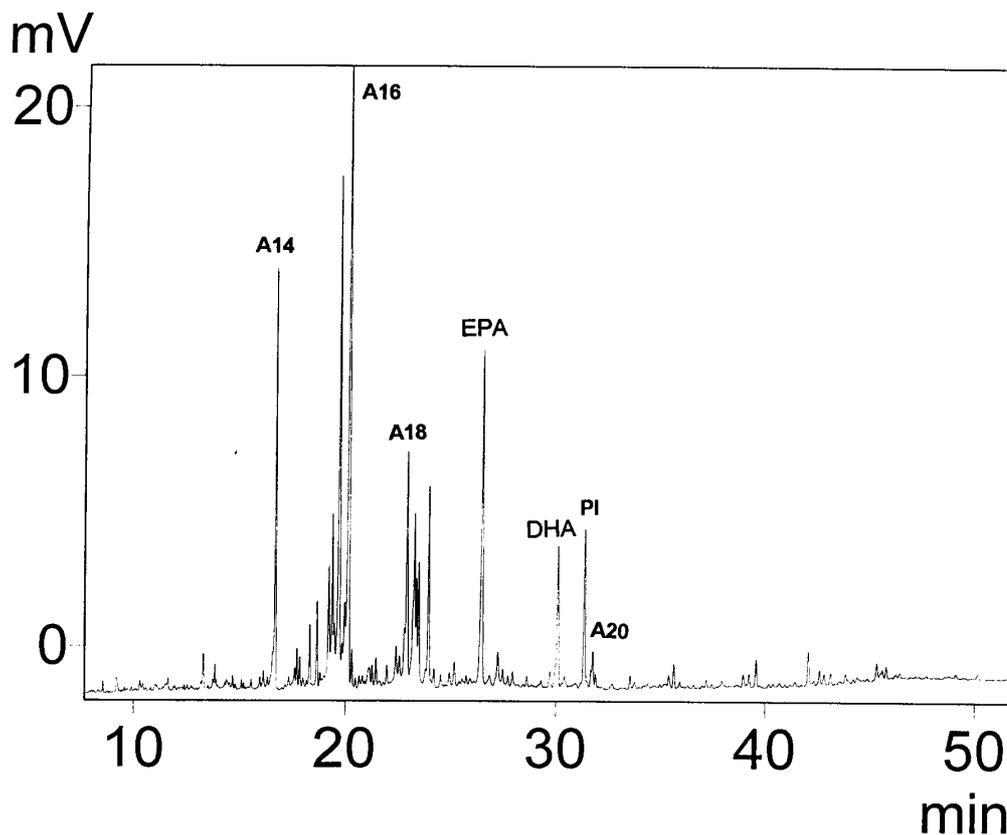
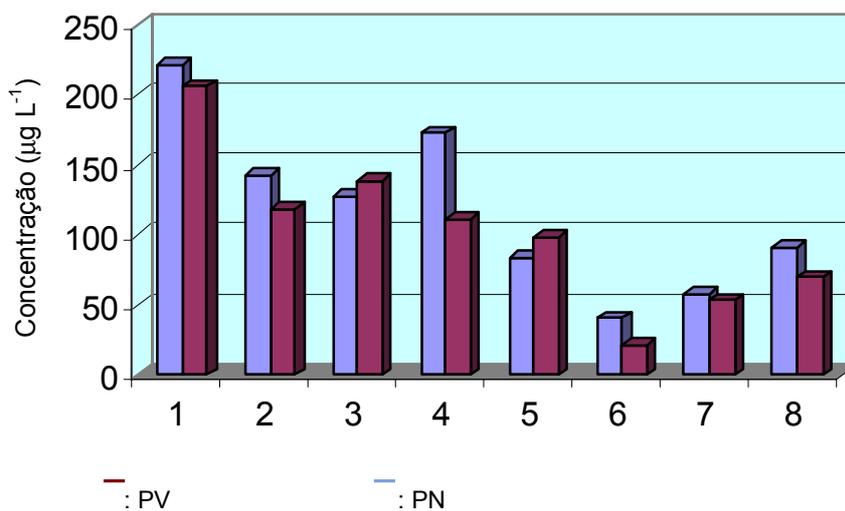


FIGURA 15 - CROMATOGRAMA PARCIAL DO EXTRATO LIPÍDICO DE AMOSTRA DE MATERIAL PARTICULADO PROVENIENTE DO MANGUEZAL DE RATONES, PONTO DE AMOSTRAGEM PV.

PI: PADRÃO INTERNO $A_{22:1}$ (NA FORMA DE METIL ÉSTER).

A_N : ÁCIDO ALIFÁTICO COM N ÁTOMOS DE CARBONO.

A concentração lipídica total máxima foi observada nas amostras coletadas em março de 2000, com valores decrescentes ao longo das coletas subsequentes (exceção a coleta de junho de 2000) e com leve aumento na última data de coleta, em novembro de 2000 (FIG 17a).



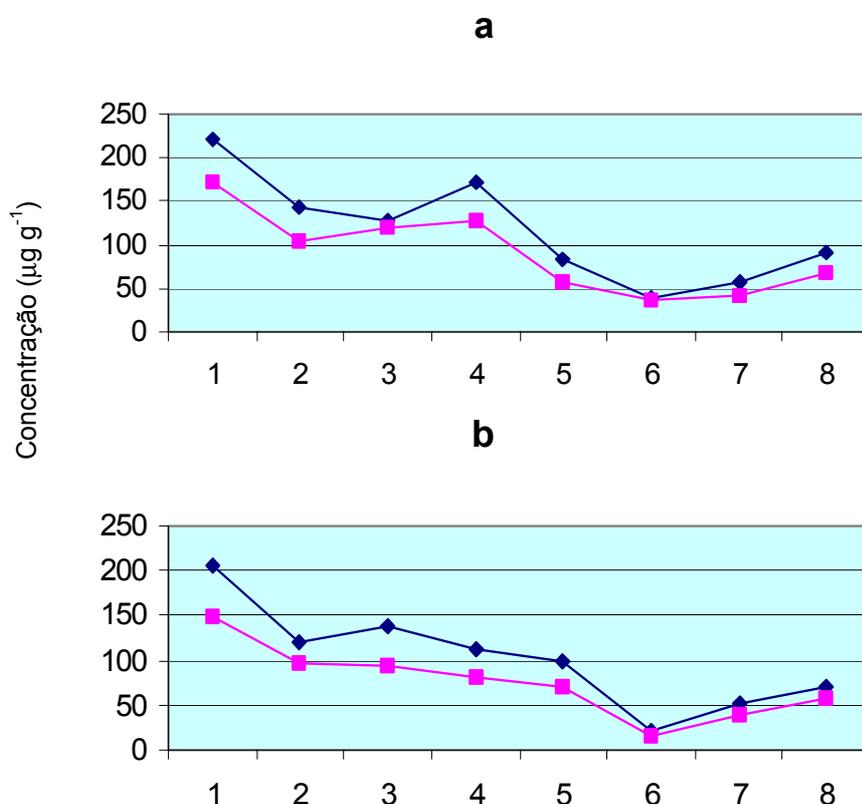
1: 21/03/2000 2: 30/04/2000 3: 18/05/2000 4: 21/06/2000
 5: 04/07/2000 6: 20/08/2000 7: 10/09/2000 8: 11/10/2000

FIGURA 16 - VARIAÇÃO SAZONAL DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS IDENTIFICADOS NO MATERIAL PARTICULADO DOS PONTOS PN E PV

A concentração lipídica total máxima foi observada nas amostras coletadas em março de 2000, com valores decrescentes ao longo das coletas subsequentes (exceção à coleta de junho de 2000) e com leve aumento na última data de coleta, em novembro de 2000 (FIG 17a).

No presente estudo, foi notado a grande relação entre a concentração lipídica total e a concentração dos ácidos de cadeias curtas (FIG. 17a e 17b). Estes compostos ácidos (C_{14} a C_{20}) representam a maior parcela lipídica identificada no material particulado. A distribuição dos ácidos graxos nas amostras de material particulado em águas superficiais fornece uma indicação das fontes de matéria orgânica; estes dados são melhor avaliados com a ajuda de outra importante classe lipídica, os esteróis (Volkman, 1986).

Assim como nas amostras de sedimento, não foi possível a quantificação dos esteróis, neste caso, em particular, pelo fato de que a análise foi feita com o extrato lipídico total, sem fracionamento inicial das três classes lipídicas principais. Os esteróis são componentes relativamente insignificantes das misturas lipídicas no material particulado suspenso, representando cerca de 8% da composição total (Wakeham & Lee, 1989). Com este dado, fica clara a razão da grande dificuldade de identificação e quantificação deste grupo de lipídios. Uma alternativa seria a filtração de volumes de água muito superiores aos usados com posterior isolamento dos esteróis antes da análise



cromatográfica.

— : concentração lipídica total; ($\mu\text{g L}^{-1}$)
 — : concentração dos ácidos $\Sigma(\text{C}_{14}$ a C_{20}); ($\mu\text{g L}^{-1}$)

1: 21/03/2000 2: 30/04/2000 3: 18/05/2000 4: 21/06/2000
 5: 04/07/2000 6: 20/08/2000 7: 10/09/2000 8: 11/10/2000

FIGURA 17 - DISTRIBUIÇÃO SAZONAL DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS E ÁCIDOS DE CADEIA CURTA (C₁₄ A C₂₀) NAS AMOSTRAS DE MATERIAL PARTICULADO DO MANGUEZAL DE RATONES, PONTOS DE AMOSTRAGEM PN (a) E PV(b).

Além da análise da classe dos esteróis, uma possível distinção entre ácidos produzidos pelo fitoplâncton e zooplâncton é feita com a análise dos triacilgliceróis e dos ésteres de cadeia longa (Wakeham & Lee, 1989). Triacilgliceróis são a maior reserva energética lipídica do fitoplâncton; sua análise necessita de uma etapa de hidrólise do extrato lipídico, com sua conversão em ácidos graxos livres. Ésteres graxos (alquil ésteres de cadeia longa) são geralmente biossintetizados exclusivamente pelo zooplâncton; sua análise pode ser feita a partir do fracionamento do extrato total.

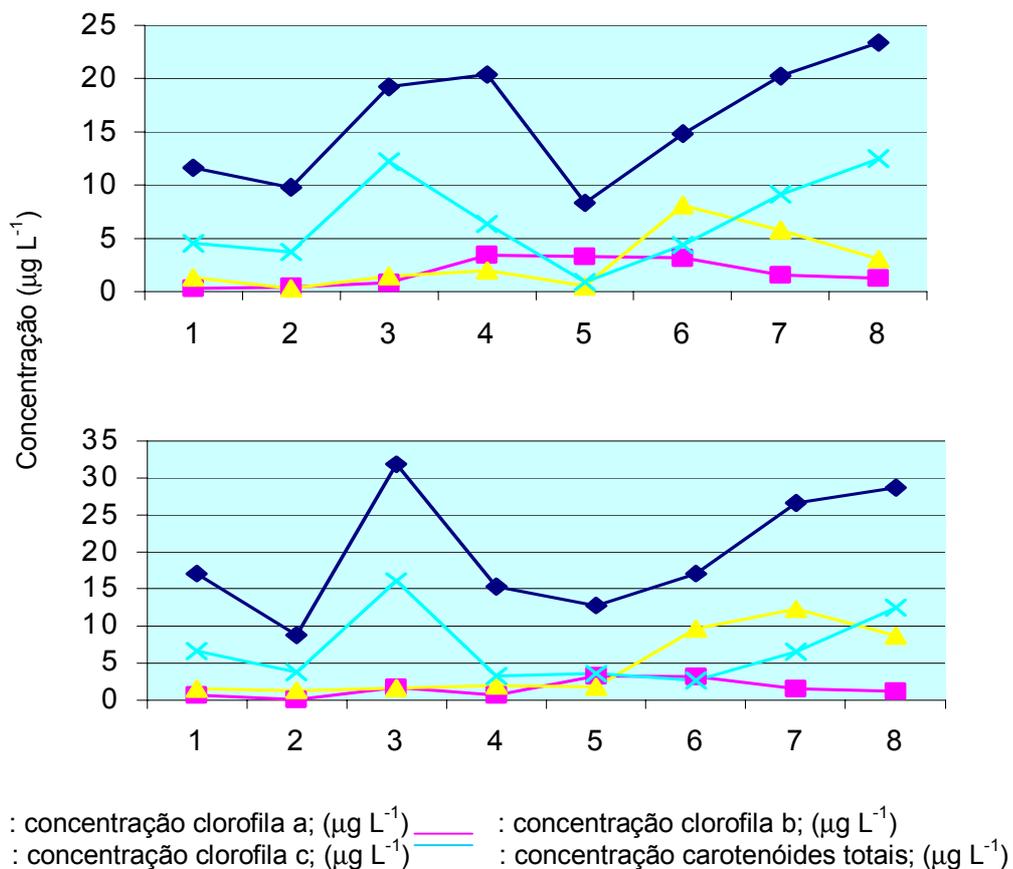
4.2.2 Pigmentos

As variações sazonais na concentração de matéria orgânica particulada são observadas inicialmente na superfície da coluna d'água e são similares à variação na produtividade primária (Millero, 1996). Os ácidos presentes no material particulado podem ser usados para traçar a origem da matéria orgânica e são indicativos da atividade biológica do local em estudo (Saliot *et al.*, 1982).

O valor máximo encontrado para a concentração de clorofila *a* (FIG. 18) parece incoerente com as distribuições temporais típicas desse pigmento, visto que a amostragem foi realizada entre o outono e o inverno. Levando-se em consideração a possibilidade de existência de fatores isolados que possam vir a causar alguma variação significativa na quantidade de material particulado em suspensão (como uma forte precipitação atmosférica), pode-se suspeitar que os altos níveis de pigmentos e lipídeos encontrados na amostragem de maio/2000 seja conseqüência de um aumento esporádico na quantidade de material particulado filtrado. Como os valores de concentração são expressos em termos de volume de água filtrada e não na massa

particulada retida, a interpretação dos resultados deve ser feita com cautela.

A partir do mês de setembro/2000, observou-se o aumento nas concentrações de clorofila *a* e carotenóides, sugerindo o aumento no crescimento fitoplânctônico entre a transição das estações inverno e primavera. O primeiro ponto de coleta, em março/2000, também sugere um pico máximo de desenvolvimento fitoplanctônico no final do verão.



1: 21/03/2000 2: 30/04/2000 3: 18/05/2000 4: 21/06/2000
 5: 04/07/2000 6: 20/08/2000 7: 10/09/2000 8: 11/10/2000

FIGURA 18 - DISTRIBUIÇÃO SAZONAL DAS CONCENTRAÇÕES DE CLOROFILA *a*, CLOROFILA *b*, CLOROFILA *c* E DE CAROTENÓIDES TOTAIS NAS AMOSTRAS DE MATERIAL PARTICULADO DO MANGUEZAL DE RATONES, PONTOS PN (a) E PV (b).

Sabe-se que um grande número de fatores químicos e físicos pode afetar o desenvolvimento fitoplanctônico, como a intensidade de luz,

temperatura, salinidade, micronutrientes e alguns fatores orgânicos, como falta de certos compostos. Assim, o crescimento primário máximo é alcançado quando existe a combinação ótima entre todos estes parâmetros, principalmente entre a intensidade apropriada da radiação luminosa e a disponibilidade de nutrientes, como nitrogênio e fósforo (Millero, 1996).

É interessante notar que parece haver uma correlação negativa entre as concentrações de clorofila *a* e clorofila *b* (FIG. 18). Nos meses de junho, julho e agosto observaram-se as concentrações mais reduzidas de clorofila *a* e as concentrações mais elevadas de clorofila *b*, um pigmento acessório encontrado em algumas espécies específicas do fitoplâncton. Isso sugere que nos meses onde a incidência de radiação solar é menor, é necessário o uso mais pronunciado de pigmentos que ampliem a capacidade de absorção de luz.

4.2.3 Correlação entre lipídios e pigmentos

Considerando-se que ácidos graxos com cadeias contendo de 14 a 20 átomos de carbono são produzidos em maiores quantidades por plantas aquáticas (Tissot & Welte, 1984), a variação sazonal da concentração destes compostos no material particulado mostrou ser acompanhada pela correlação positiva nas concentrações de clorofila *a*, um pigmento que reconhecidamente é empregado como um dos parâmetros para a avaliação da biomassa fitoplanctônica. Foram observados que os valores máximos na concentração de clorofila *a* correlacionaram-se com os respectivos valores das concentrações dos ácidos de cadeia curta, enquanto que os valores mínimos na concentração de clorofila *a* mostraram uma defasagem positiva em relação à concentração lipídica (a concentração de clorofila apresentou um mínimo em julho/2000 e a concentração lipídica correlacionada apresentou um mínimo de

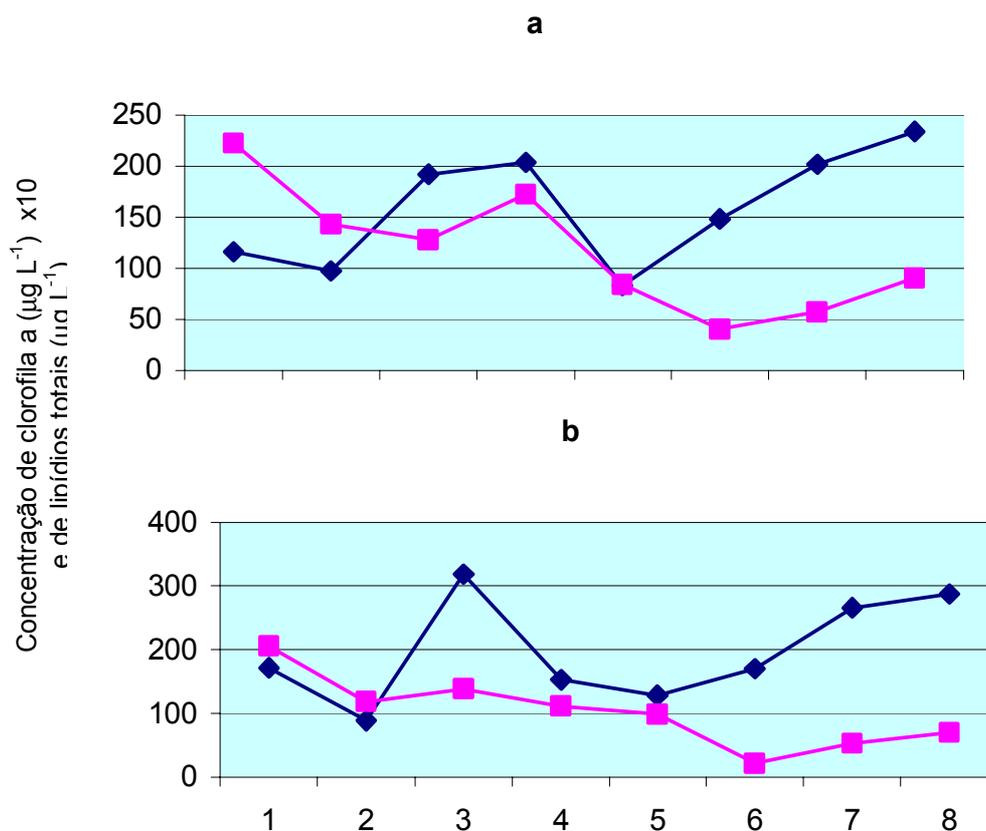
concentração em agosto/2000).

A figura 19 agrupa os resultados da variação sazonal nas concentrações de clorofila *a* e da fração lipídica total. É interessante notar que existe certa tendência de correlação entre estes dois parâmetros, porém, para algumas datas de coleta esta regra não foi mantida. No ponto de amostragem PN, a diminuição registrada na concentração de clorofila *a* no mês de maio foi acompanhada por um aumento na concentração lipídica, assim como na amostragem do mês de agosto. Para as datas de coleta restantes foi observado que a variação nas concentrações de clorofila foi acompanhada por variações nas concentrações lipídicas.

No ponto de amostragem PV, foi observado que apenas no mês de agosto os parâmetros clorofila e lipídios não se correlacionaram de maneira semelhante às outras datas de coleta. Neste mês, o aumento na concentração de clorofila foi acompanhado por uma diminuição na concentração lipídica total.

4.2.4 Possíveis correlações entre lipídios, pigmentos e oscilações das marés

A observação de que em algumas datas de coleta de material particulado não foram obtidas correlações positivas entre pigmentos e lipídios mostra que podem existir inúmeros outros fatores além dos que governam a taxa de produtividade primária que devem ser levados em consideração quando são feitas correlações desta natureza.



— : Concentração lipídica total ($\mu\text{g L}^{-1}$)
 — : Concentração de Clorofila a ($\times 10$) ($\mu\text{g L}^{-1}$)

1: 21/03/2000 2: 30/04/2000 3: 18/05/2000 4: 21/06/2000
 5: 04/07/2000 6: 20/08/2000 7: 10/09/2000 8: 11/10/2000

FIGURA 19 – COMPARAÇÃO ENTRE A VARIAÇÃO SAZONAL DA CONCENTRAÇÃO LIPÍDICA TOTAL E DE CLOROFILA a EM AMOSTRAS DE MATERIAL PARTICULADO, MANGUEZAL DE RATONES, PONTOS DE AMOSTRAGEM PN (a) E PV (b).

Sabe-se que um dos grandes fatores que influenciam a concentração do material em suspensão é a variação da maré, que acaba por provocar a exportação e importação de matéria orgânica e inorgânica particulada e dissolvida nos sistemas de manguezais. Assim, as variações das concentrações de material particulado entre os diferentes ciclos de maré estão relacionadas diretamente com as cargas transportadas pelo fluxo e refluxo, pois são

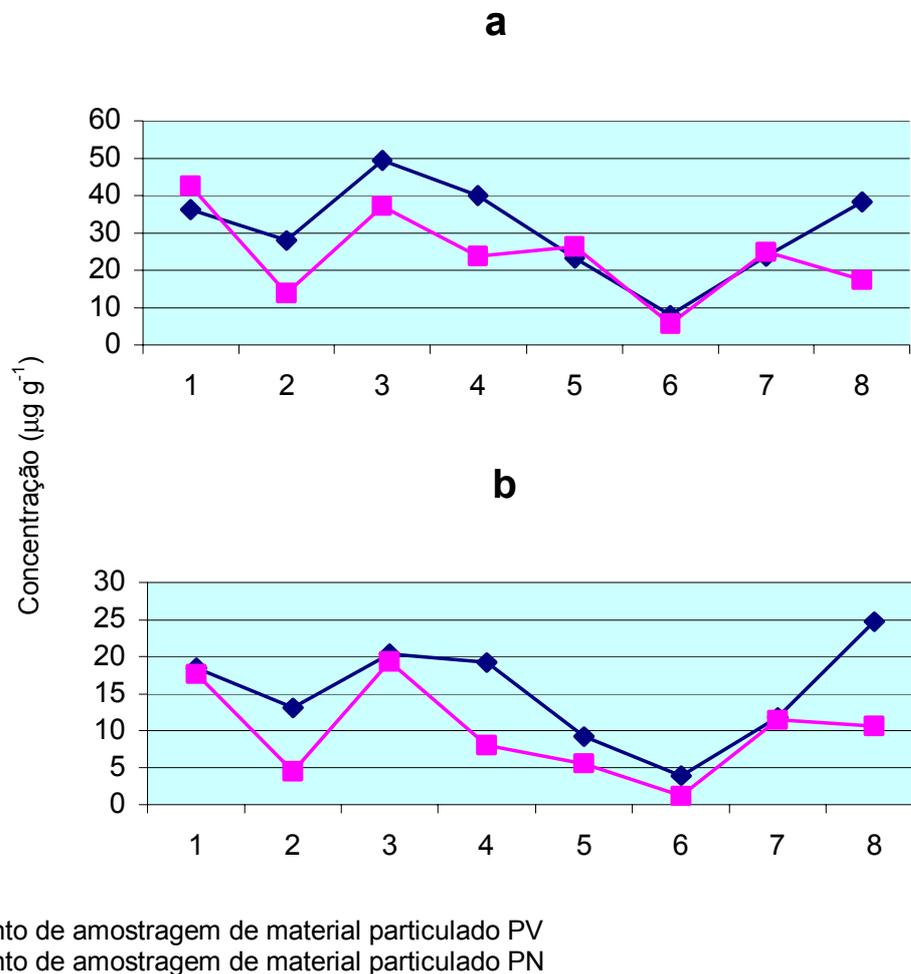
influenciadas as concentrações de material em suspensão e o volume de água circulante (Adaime, 1985).

Em um estudo feito no manguezal do Itacorubi onde foram avaliados entre outros parâmetros, o balanço de matéria exportada e importada pelo manguezal e a baía Norte proximal (De La Corte, 1995), observou-se que o material particulado é preferencialmente exportado pelo manguezal (apresentaram maiores valores em águas de refluxo de maré) e que os valores das concentrações de clorofila *a* foram maiores nos períodos de fluxo de maré, sugerindo que o manguezal apresentava produtividade primária fitoplanctônica menor que a da baía proximal. No presente estudo, foram selecionados dois compostos ácidos que puderam ser quantificados nas amostras de material particulado e que são sintetizados essencialmente por organismos marinhos, o ácido eicosapentaenóico (C_{20:5}), também denominado EPA e o ácido docosaexaenóico (C_{22:6}), conhecido também por DHA (Akiyama *et al.*, 1992). Esses compostos foram usados como indicadores de possíveis variações na composição do material orgânico particulado decorrente das oscilações da maré. É importante ressaltar que estes dois ácidos graxos poliinsaturados são indispensáveis na dieta de pequenos crustáceos marinhos sob o aspecto de seu crescimento (Pontes, 1997).

A figura 20 mostra a variação nas concentrações dos ácidos EPA (a) e DHA (b) nos dois pontos de coleta de amostras, PN e PV. A concentração do ácido DHA no ponto de amostragem PV foi inferior em todas as 8 datas de coleta quando comparada ao ponto de amostragem PN. Para o ácido EPA, os meses denominados 1, 5 e 7 apresentaram uma concentração levemente superior no ponto de amostragem PV. As variações de concentração de ambos os ácidos ao longo dos meses pode ser justificada principalmente pelas mudanças sazonais que acarretaram um comportamento semelhante frente aos lipídios totais e pigmentos. Desta maneira, é praticamente impossível atribuir

as concentrações maiores ou menores de lipídios marinhos presentes no material particulado entre todo o período de estudo como consequência das variações sazonais ou das oscilações das marés. Este tipo de análise é justificado quando é feito um acompanhamento, por exemplo, da variação do material lipídico durante todo o período de fluxo e refluxo do mar, e não com apenas uma amostragem isolada, visto que tanto as variações sazonais como as variações das marés talvez representem os principais parâmetros que regulam a produtividade em ambientes costeiros, e que sempre agem simultaneamente.

Uma observação interessante que pode ser constatada foi a diferença entre as concentrações dos ácidos EPA e DHA entre os dois pontos de amostragem de material particulado nas mesmas datas de coleta (FIG. 20). Foi verificado que nas coletas realizadas em ocasiões de enchente, ou maré alta, próximas à amplitude máxima (datas de coleta 1, 5, 6 e 7) a diferença nas concentrações entre os dois ácidos graxos comparativamente aos dois pontos PN e PV foi menor (menos de 15% para o ácido EPA e menos de 5% para o ácido DHA). Para a data 2, com coleta no início do fluxo da maré e para as datas de coletas 4 e 8 realizadas em períodos de refluxo ou maré baixa, as diferenças nas concentrações dos dois ácidos entre os pontos PN e PV foi em média de 41% para o ácido EPA e 62% para o ácido DHA. A data de coleta 3, realizada em período de vazante, apresentou uma diferença acentuada nas concentrações do ácido EPA (25%) e uma diferença menos pronunciada com respeito à concentração do ácido DHA (5%) comparativamente aos dos pontos de coleta PN e PV.



1: 21/03/2000 - Fluxo 2: 30/04/2000 - Fluxo 3: 18/05/2000 - Refluxo 4: 21/06/2000 - Refluxo
5: 04/07/2000 - Fluxo 6: 20/08/2000 - Fluxo 7: 10/09/2000 - Fluxo 8: 11/10/2000 - Refluxo

FIGURA 20 - VARIAÇÃO NAS CONCENTRAÇÕES DOS ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS EPA (a) E DHA (b) COMPARATIVAMENTE ENTRE OS DOIS PONTOS DE COLETA DAS AMOSTRAS DE MATERIAL PARTICULADO PN E PV COM RELAÇÃO À VARIAÇÃO DA MARÉ.

Observou-se que nas coletas de material particulado realizadas em períodos de maré alta a diferença nas concentrações dos ácidos EPA e DHA entre os dois pontos de amostragem foi menor, indicando que neste período ocorreu uma importação de material orgânico proveniente do mar e que este material alcançou o ponto de amostragem mais afastado da costa (PV). Nas

coletas realizadas em períodos de refluxo ou no início do período de fluxo do mar, os dois pontos de coleta apresentaram os citados ácidos em concentrações muito diferentes, sendo que o ponto PN apresentou as maiores concentrações.

Pode-se sugerir que o ponto PN, por estar localizado mais próximo ao mar, recebe com maior abundância material orgânico de aporte marinho, principalmente em ocasiões de maré alta. Por outro lado, o ponto de coleta PV, por estar mais afastado da costa, além de apresentar concentrações dos ácidos EPA e DHA menores, recebe uma contribuição de material orgânico marinho de modo mais pronunciado em ocasiões de maré alta, principalmente nas situações de amplitude máxima.

5 CONCLUSÕES

As séries homólogas dos compostos lineares saturados e não ramificados fracionados em alcanos, álcoois e ácidos carboxílicos puderam ser usadas como indicadores de fontes de matéria orgânica nos sedimentos e material particulado. A série dos alcanos apresentou distribuição dominada por cadeias longas, com forte predomínio ímpar/par, caracterizando a contribuição da matéria orgânica por plantas superiores terrestres.

A distribuição molecular bimodal apresentada na série dos álcoois sugere que a matéria orgânica possui componentes terrestres e marinhos. No entanto, as fontes marinhas só puderam em parte ser identificadas com a análise de compostos lipídicos produzidos especificamente, como os esteróis.

A série dos ácidos carboxílicos foi a mais significativa em termos de concentração relativa frente aos outros grupos lipídicos. Sua distribuição molecular caracterizou a matéria orgânica como sendo uma mistura de fontes terrestres e marinhas, confirmado através das razões molares C:N:P, dos valores de ICP e RTA.

O ponto 1 (localizado no delta) e o ponto 3 (localizado às margens do rio Ratonas) caracterizaram um maior acúmulo de material orgânico composto pela mistura de fitodetritos marinhos e terrestres. O ponto 2 apresentou composição essencialmente arenosa, com distribuição lipídica acusando um predomínio de material orgânico de origem marinha. O ponto 4, apesar de possuir um certo grau de arenosidade, mostrou a composição mista de matéria orgânica proveniente de fontes

marinha e terrestres.

O fracionamento das espécies orgânica e inorgânica de fósforo mostrou haver um certo padrão na distribuição das duas espécies. No manguezal de Ratonés, cerca de 60% da fração total de fósforo foi ocupada pela fração inorgânica. Esta mesma razão encontrada no manguezal do Itacorubi representou em média de 85%, podendo indicar a poluição por efluentes domésticos. Além da concentração de fósforo, o carbono orgânico mostrou relação com a composição granulométrica encontrada em cada amostra de sedimento, sendo que os teores mais elevados estiveram ligados aos maiores percentuais de partículas com granulações mais finas.

A identificação de muitos compostos no extrato lipídico proveniente do material particulado foi dificultada pelo seu não fracionamento. Para tanto, seriam necessárias quantidades muito superiores de amostra. Os pigmentos fotossintetizantes forneceram um indicativo da produtividade primária, mantendo uma correlação sazonal com a fração lipídica extraída (exceção ao mês de maio e agosto para o ponto de amostragem PN e para o mês de agosto para o ponto de amostragem PV).

Com base nas concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados EPA e DHA, foi observado que em períodos de fluxo das marés o ponto de amostragem PV recebeu maior aporte de matéria orgânica de origem marinha, ao contrário do ponto de amostragem PN, que apresentou concentrações relativamente elevadas dos citados ácidos mesmo em períodos de refluxo das marés.

Bibliografia

BIBLIOGRAFIA

ADAIME, R. R. **Produção do bosque de mangue da Gamboa Nóbrega (Cananéia, 25° Lat. S – Brasil)**. Tese de Doutorado Instituto Oceanográfico USP, SP. 305 pp, 1985.

AKYIAMA, D. H., DIMINY, W. G., LAWRENCE, A. L. **Penaeid Shrimp Nutrition**. *In: Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. 1 ed. Netherlands: Elsevier Science Publishers, 1992.

ASPILA K. I., AGEMIAN H., CHAU A. S. Y. **A semi-automated method for the determination of inorganic, organic and total phosphate in sediments**. *Analyst*, **101**, 187-197, 1976.

BAUGH P. J. **Gas Chromatography: A Practical Approach**. In *The Practical Approach Series*, Oxford University Press, 1993.

BOSCH H. J., SINNINGHE DAMSTÉ J. S., LEEUW J. W. **Molecular palaeontology of sapropels: evidence for photic zone euxinia**. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, vol. 160, 1998.

BRAY E. E. and EVANS E. D. **Distributions of n-parafins as a clue to the recognition of source beds.** Geochim. Cosmochim. Acta, **27**:1113-1127, 1961.

BROCKS J. J.; LOGAN G. A.; BUICK R.; SUMMONS R. E. **Archean molecular fossils and the early rise of eucaryotes.** Science, **285**:1033-1036. 1999.

CHAPMAN, P. M.; WANG, F. **Assessing sediment contamination in estuaries.** Environmental Toxicology and Chemistry, **20**, 3-22, 2001.

COLLINS C. H., BRAGA G. L., BONATO P. S. **Introdução a métodos cromatográficos.** Editora da Unicamp, 5 ed., 1993.

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

DE LA CORTE, F. S. **Contribuição para o conhecimento do balanço de importação/exportação de matéria entre o manguezal do rio Itacorubi e a Baía Norte proximal (Ilha de Santa Catarina, Brasil).** Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas UFSC, 64pp, 1995.

EGLINTON G., HAMILTON R. J. **Leaf epicuticular waxes.** Science, **156**:1322-1335, 1967.

GAGOSIAN R. B., NIGRELLI G. E., VOLKMAN J.K. **Vertical transport and transformation of biogenic organic compounds from a sediment trap experiment off coast of Peru.** Coastal Upwelling, Plenum Press, part A, 241-272, 1983.

GRASSHOFF K., KREMLING K., EHRHARDT M. **Methods of Seawater Analysis.** 3 ed. Wiley-VCH., 1999.

HOROWITZ, A. J.; ELRICK, K. A. **Methods for dealing with the grain size effect.** STP 976 – American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp 114-128, 1988.

HUNTER K. A., LISS P. S. **Organic matter and the surface charge of suspended particles in estuarine water.** Limnol. Oceanogr. **27**, 322-335, 1982.

JEFFREY S. A.; HUNPHREY G. Biochem. Physiol. **167**:191-194.

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

KOROLEFF F. **Determination of phosphorus.** In Methods of seawater analysis. Verlag, 1983.

LIKENS G. E., BORMANN F. H., JOHNSON N. M. **Interaction between major biogeochemical cycles in terrestrial ecosystems.** In Some Perspectives of the Major Biogeochemical Cycles – SCOPE, **17**, 93-112, 1981.

MADUREIRA L. A. S., CONTE M. H., EGLINTON G. **Early diagenesis of lipid biomarkers compounds in North Atlantic Sediments.** Paleooceanography, **10**: 627-642, 1995.

MAYZAUD P., CHANUT, J. P., ACKMAN R. G. **Seasonal changes of the biochemical composition of marine particulate matter with special reference to fatty acids and sterols.** Mar. Ecol. Prog. Ser., **56**, 189-204, 1989.

MILLERO FRANK J. **Chemical oceanography.** 2nd ed. New York: CRC Press, Inc, 1996

MONAGHAN E. J., RUTTENBERG K. C. **Dissolved organic phosphorus in the coastal ocean: Reassessment of available methods and**

seasonal phosphorus profiles from the Eel River Shelf. *Limnol. Oceanogr.* **44(7)**, 1702-1714, 1999.

MURPHY J., RILEY J. **A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters.** *Anal. Chim. Acta*, **27**:31-36. 1962.

NOVELLI Y. S. **Perfil dos ecossistemas litorâneos brasileiros, com especial ênfase sobre o ecossistema manguezal.** *Publção esp. Inst. Oceanogr.*, S. Paulo, **7**, 1-16, 1989.

ODUM E. P. **Ecologia.** São Paulo, Livraria Pioneira/EDUSP, 1970.

PARSONS T. R.; MAITA Y.; LALLI C. M. **A manual of chemical and biological methods for seawater analysis.** Pergamon Press, New York. pp 173.

PONTES, C. S. **Efeito da adição de ácidos graxos poliinsaturados na dieta sobre o crescimento, sobrevivência e metamorfose nas fases larvais e pós-larvais de *Penaeus Paulensis*.** Dissertação de Mestrado, Curso de Pós Graduação em Aquicultura, UFSC, 1997. 123p.

REDFIELD A. C., KETCHUM B. H., RICHARDS F. A. **The influence of organisms on the composition of seawater.** In *The Sea*, Vol 2, 26-77, 1963.

RIELEY G., COLLIER R. J., JONES D. M., EGLINTON G. **The biochemistry of Ellesmere Lake, U.K.-I: source correlation of leaf wax inputs to the sedimentary lipid record.** *Org. Geochem.* **17**, 901-912, 1991.

RODRIGUES NETO R. **Determinação de feopigmentos, proteínas solúveis e lipídios em sedimentos da Lagoa do Peri, Ilha de Santa Catarina, SC.** Tese de Mestrado em Química, Departamento de Química, UFSC, 1998. 78p.

ROHMER M., BOUVIER-NAVE P. and DURISSON G. **Distribution of hopanoid triterpenes in prokaryotes.** *J. Gen. Microbiol.*, **130**:1137-1150, 1984.

RUTTENBERG K. C. **Development of a sequential extraction method for different forms of phosphorus in marine sediments.** *Limnol. Oceanogr.* **37**, 1460-1482, 1992.

RUTTENBERG K. C., GOÑI M. A. **Depth trends in phosphorus distribution and C:N:P ratios of organic matter in amazon fan**

sediments: Indices of organic matter source and burial history. In Proceedings of the Ocean Drilling Program (ODP), Scientific Results, Vol 155, 1997.

SICRE M. A., TIAN R. C., SALIOT A. **Distribution of sterols in the suspended particles of Chang Jiang Estuary and adjacent East China Sea.** Org. Geochem. **21**,1-10, 1994.

SILVA A. D. **Estudo Geo-Estrutural do Manguezal de Ratoes na Ilha de Santa Catarina, Município de Florianópolis, SC.** Dissertação de Mestrado em Geografia, Departamento de Geo – Ciências – UFSC, 1990.

SILVA I. S. & TOLEDO M. C. M. **Distribuição e Fracionamento Químico de Fósforo em Sedimentos do Rio Tietê – Região de Pirapora do Bom Jesus, SP.** Geochem. Brasil, **11**:243-259, 1997.

SIMONEIT B. R. T. **The organic chemistry of marine sediments.** Chem. Oceanogr. **7**:233-311, 1978.

STRICKLAND J. D. H., PARSONS T. R. **A Pratical Handbook of Seawater Analysis.** Ottawa (Fisheries Research board of Canada), 1972.

STUART G. W., LEE C. **Organic geochemistry of particulate matter in the ocean: The role of particles in oceanic sedimentary cycles.** Org. Geochem, **14**:83-96, 1989.

SUGUIO K. **Introdução à Sedimentologia.** Ed. Universidade de S. Paulo, 1973.

SUMMONS R. E.; JAHNKE L.L.; HOPE J. M.; LOGAN G. A. **2-methylhopanoids as biomarkers for cyanobacterial oxigenic photosynthesis.** Nature, **400**:554-557. 1999.

TISSOT B. P., WELTE D. H. **Petroleum Formation and Ocorrence.** 2 ed. Springer- Velag, 1984.

VOLKMAN J. K., EGLINTON G., CORNER E. D. S. **Sterols and fatty acids of the marine diatom *Biddulphia sinensis*.** Phytochemistry, **19**:1809-1813, 1980.

VOLKMAN J. K. **A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter.** Org. Geochem. **9**, 83-99, 1986.

WAKELHAM STURAR G., LEE CINDY. **Organic geogemistry of particulate matter in the ocean: The role of particles in oceanic sedimentary cycles.** Org. Geochem. **14**, 83-96, 1989.

WAKEHAM S. G., CANUEL E. A. **Organic geochemistry of particulate matter in eastern tropical North Pacif Ocean: Implications for particle dynamics.** J. Mar. Res. **46**, 183-213, 1980.

WAKEHAM S. G., LEE C., FARRINGTON J. W., GAGOSIAN R. B. **Biochemistry of particulate matter in the oceans: results from sediment trap experiments.** Deep-Sea Res. **31**, 509-528, 1984.

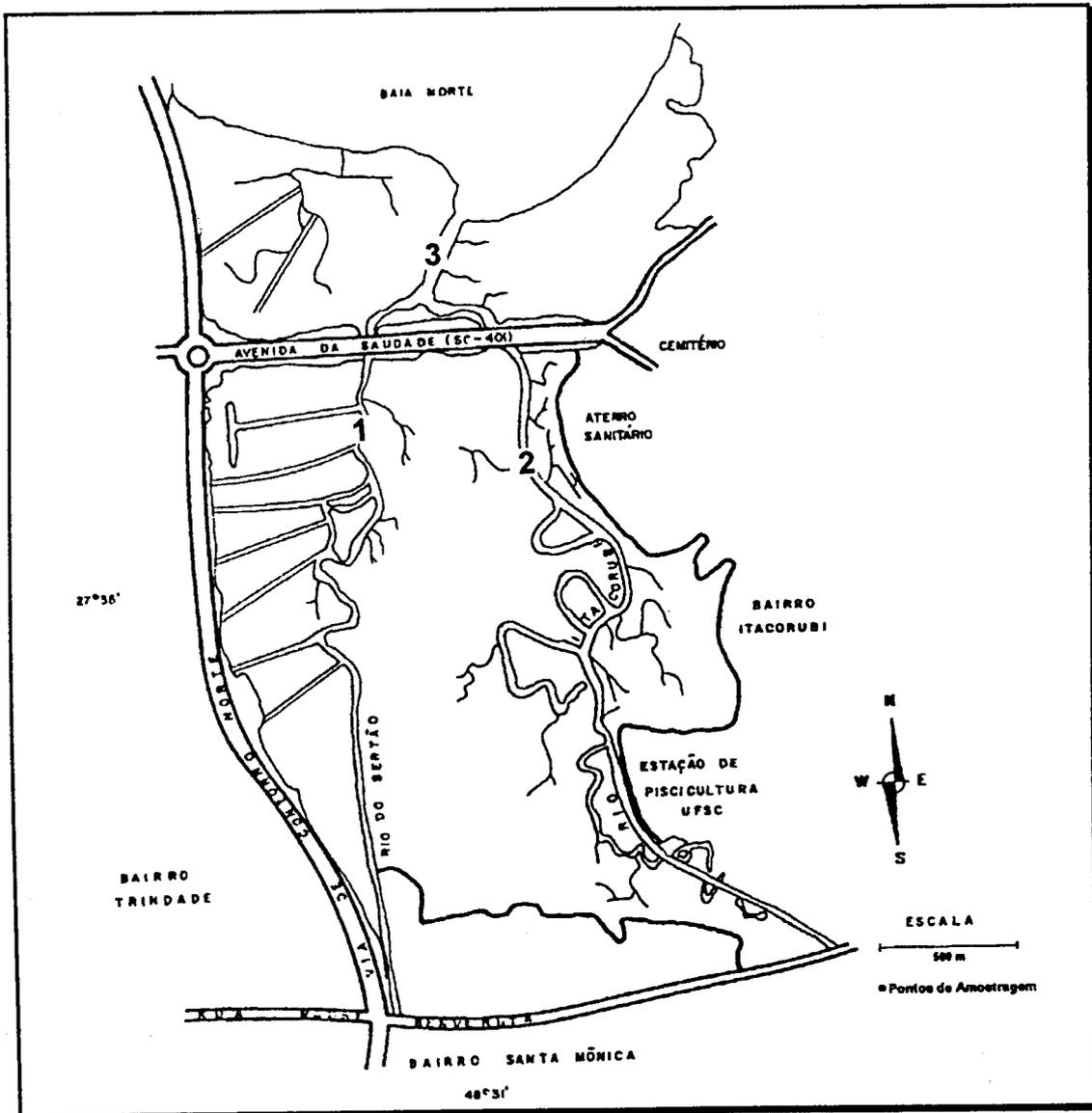
WANG Z., FINGAS M., LI K. **Fraction of Light Crude Oil and identification and Quantitation of Aliphatic, Aromatic and Biomarker compounds by CG – FID and CG – MS, Part I.** Journal of Cromatographic Science, **32**, 361-366, 1994.

WEETE J. D. **Algal and fungal waxes.** In Chemistry and Biochemistry of natural Waxes, 349-418, 1976.

Anexos

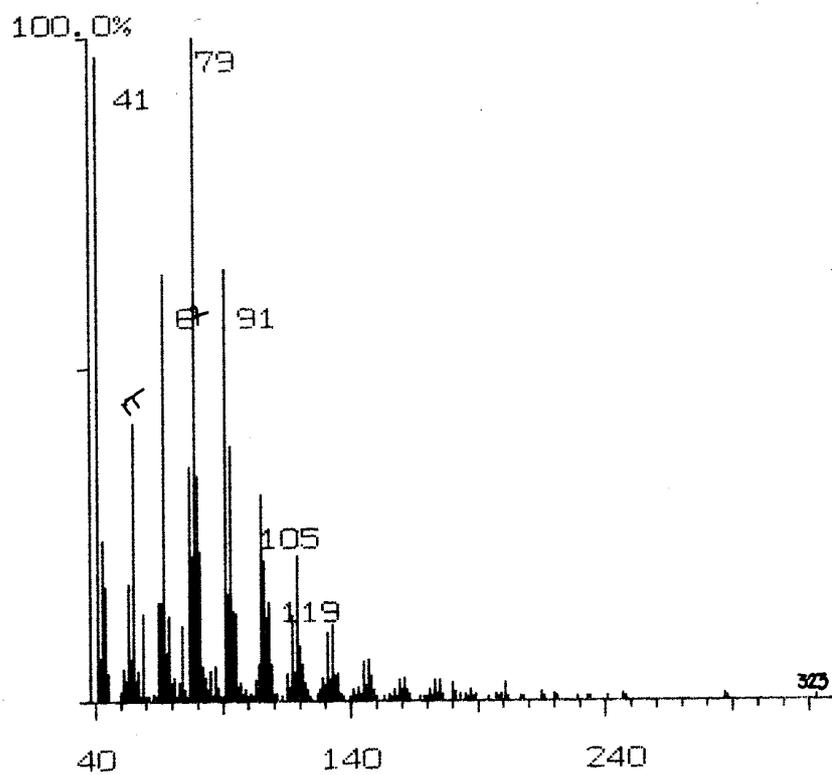
ANEXOS

Anexo 1 Mapa da área do manguezal do Itacorubi. Pontos de coleta de amostras de sedimento denominados ITAC 1 (Rio Sertão), ITAC 2 (Rio Ratoles) e ITAC 3 (confluência).



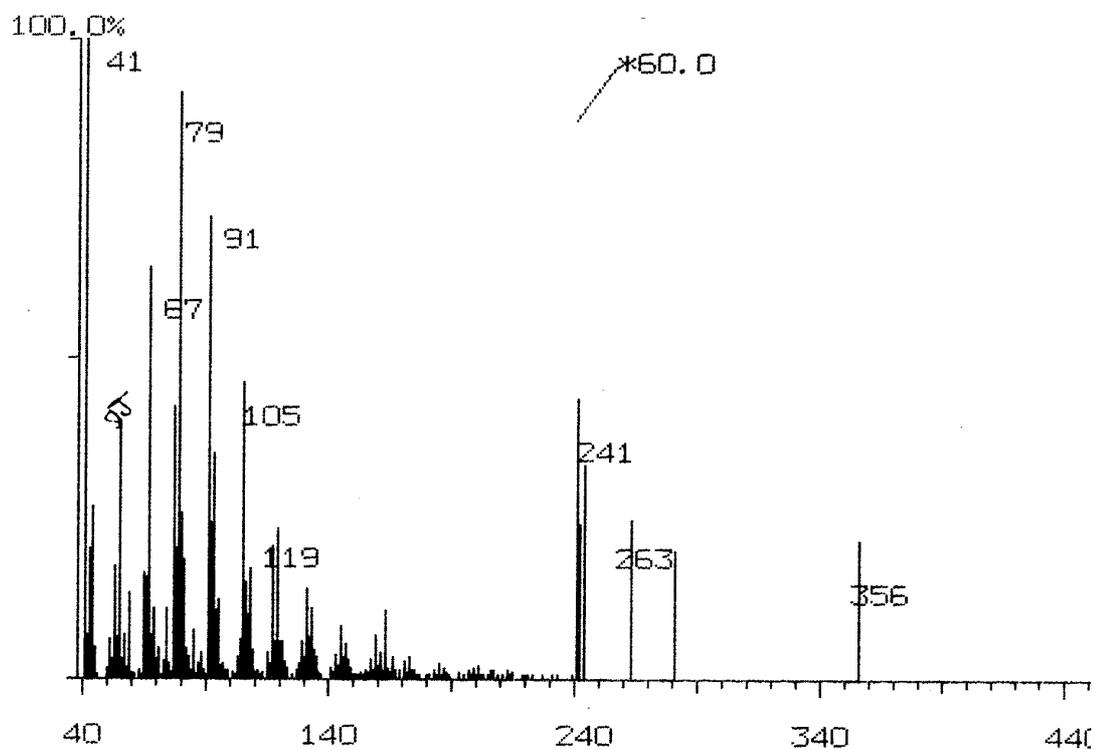
Anexo 2

Espectro de massas do ácido eicosapentaenóico (EPA) na forma de metil éster; nome sistemático ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenóico.

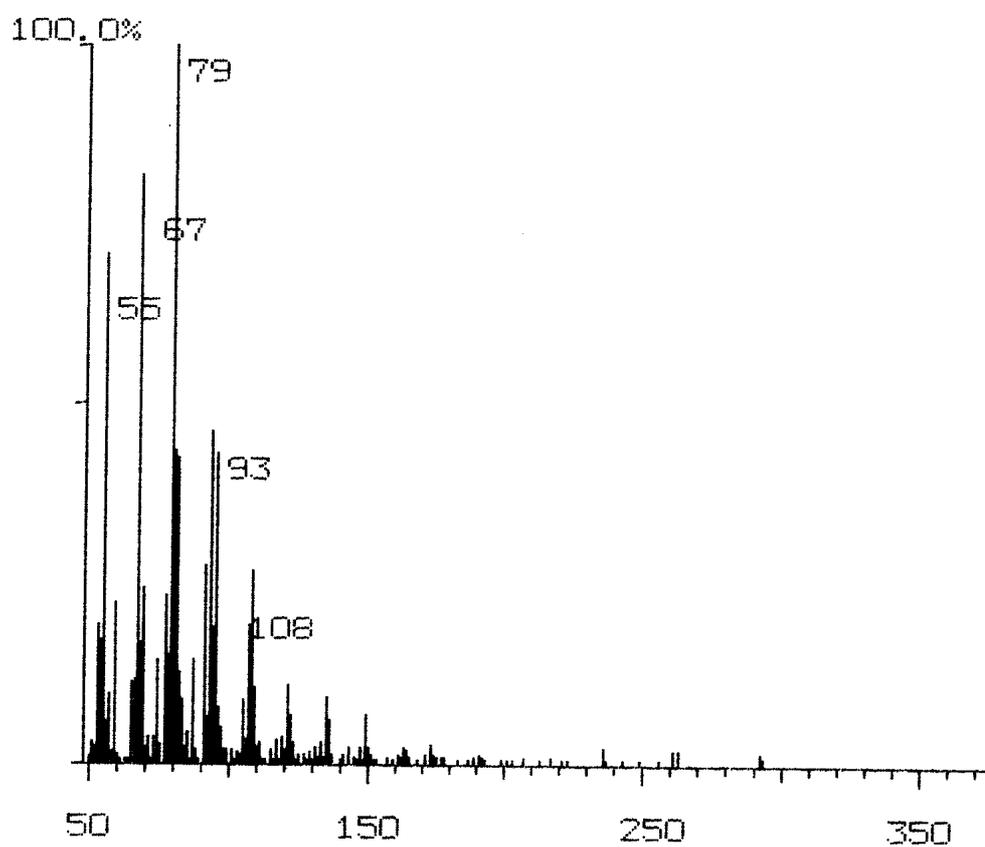


Anexo 3

Espectro de massas do ácido docosaexaenóico (DHA) na forma de metil éster; nome sistemático ácido 4,7,10,13,16,19-docosaexaenóico.



Anexo 4 Espectro de massas do ácido octadecatrienóico na forma de metil éster; nome sistemático ácido 9,12,15-octadecatrienóico.



Anexo 5 Espectro de massas do álcool ramificado 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecenil na forma silanizada.

