

**Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química**



03739142

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

**Identificação de biomarcadores na Lagoa do
Ribeirão Grande, município de Paulo Lopes – SC**

Aluna: Maurícia Beddin Fritzen

Orientador: Luiz A. dos Santos Madureira


Prof. Eduardo Antonio Pinheiro
Coord. de Estágio - Depto. Química
Portaria nº 046/CFM/99

**Florianópolis,
Julho de 2000**

AGRADECIMENTOS

Quero expressar os meus sinceros agradecimentos a todos que, direta e indiretamente, colaboraram para a execução do presente trabalho e contribuíram para que o mesmo fosse concluído. No entanto, devido a uma participação mais direta, sou especialmente grata:

Ao professor Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira, pelo apoio, amizade, confiança e exemplo de orientação.

Aos amigos do Laboratório 214 e 216, pelo prazer da convivência ao longo deste período.

Aos demais professores e colegas de curso, pelo apoio e amizade.

Aos pescadores da Lagoa do Ribeirão Grande, pelo auxílio nas coletas das amostras de sedimento.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pelo apoio financeiro.

À UFSC e Central de Análises, pela infra-estrutura fornecida.

A meus pais, irmãs e Alexandre, pelo sempre e forte apoio nos momentos difíceis.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Os Lagos.....	1
1.2 Lipídeos: Correlação com as fontes aquáticas e terrestres.....	1
1.3 Distribuição de lipídeos no sedimento.....	3
2. OBJETIVOS.....	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	7
3.1 Solventes, reagentes e padrão utilizados.....	7
3.2 Limpeza da vidraria.....	7
3.3 Instrumentação.....	7
3.4 Amostragem.....	8
3.4.1 Área de estudo.....	8
3.4.2 Coleta das amostras.....	10
3.5 Análise de lipídeos.....	10
3.5.1 Reação de metilação.....	14
3.5.2 Reação de silanização.....	14
3.6 Análise de Carbono, Nitrogênio e Hidrogênio.....	15
3.7 Granulometria.....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
4.1 Análise de Carbono Nitrogênio e Hidrogênio.....	16
4.2 Granulometria.....	17
4.3 Lipídeos.....	18
4.3.1 Identificação de compostos orgânicos.....	18
4.4 Índice de Preferência de Carbono e Razão Terrestre-Aquático	22
5. CONCLUSÕES.....	23
6. BIBLIOGRAFIA.....	25

RESUMO

Como parte dos nossos estudos sobre a presença de biomarcadores em sedimentos de lagoas costeiras no Estado de Santa Catarina, foram avaliados alguns grupos de compostos orgânicos na lagoa do Ribeirão Grande, localizada no município de Paulo Lopes. A região faz parte de uma área de preservação do Ibama, sendo, portanto, um ótimo local para se avaliar a extensão com que são preservados alguns grupos de biomarcadores de procedência terrestre e aquática. Ressalta-se também que próximo a esta lagoa encontra-se um aterro sanitário, onde há cerca de dez anos era depositado o lixo da grande Florianópolis.

Os perfis sedimentares com cerca de 1 m de profundidade foram coletados com auxílio de tubos de PVC (1m x 6 cm) em três pontos da lagoa: próximo a uma das margens, no centro e na desembocadura do principal rio que deságua na lagoa. Após serem seccionadas em intervalos de 3 e 5 cm, as amostras foram mantidas congeladas, liofilizadas e, em seguida, extraídas em ultra-som com uma mistura de $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$. Uma alíquota foi retirada antes da extração para análise granulométrica, carbono orgânico total e nitrogênio total. A partir da granulometria, observou-se que a superfície do sedimento tem uma textura rica em silte (65,4 %), com menor percentual de argila (16,8 %) e areia (17,8 %). Entretanto, na profundidade de 40 cm, aumentou o percentual de areia (27,8 %) e os valores de argila (36,2 %) e silte (36,1 %) mantiveram-se próximos. Entre os grupos de compostos orgânicos encontrados destacam-se os hidrocarbonetos, ácidos graxos e álcoois, todos de cadeias longas, acima de vinte átomos de carbono, que são procedentes de plantas terrestres. Os compostos de origem aquática presentes nos sedimentos são provenientes de microalgas, como os ácidos graxos com cadeias menores que 20 átomos de carbono. A mudança na composição geolipídica dos sedimentos com a profundidade foi acompanhada através de alguns índices como o IPC (Índice Preferencial de Carbono) e o RTA (Razão Terrestre-Aquático). Esses índices levam em consideração a distribuição relativa de alguns grupos de compostos orgânicos e são úteis para monitorar possíveis mudanças devido a variações no aporte de material orgânico terrestre ou aquático. Observou-se que os valores do IPC para os hidrocarbonetos, ácidos e álcoois, em duas amostras, uma da superfície do sedimento (0 - 3cm) e outra próxima ao fundo do sedimento (59 - 65cm) são característicos de material orgânico de origem alóctone ($\text{IPC} \geq 2$) e não variaram com a profundidade. Por outro lado, o RTA calculado para os ácidos graxos foi menor do que 1 (fração 0 - 3 cm, $\text{RTA} = 0,5$ e fração 59 - 65cm, $\text{RTA} = 0,8$), o que indica uma deposição predominante de material orgânico do tipo aquático.

Os resultados obtidos demonstram que a maior parte das degradações dos compostos orgânicos ocorrem na região biologicamente mais ativa, ou seja, nos primeiros 10 cm. Após esta região, há uma certa estabilidade, com pouca variação na distribuição e concentração dos compostos orgânicos. Não há indícios de poluição por combustível fóssil, pois não foram detectados hidrocarbonetos policíclicos aromáticos ou lineares sem predominância daqueles com número de carbono ímpar na cadeia sobre aqueles com número par. Em relação a pesticidas e herbicidas, ainda não podemos tirar nenhuma conclusão, pois as técnicas de extração e análise utilizadas até o momento foram específicas para os geolipídios.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Os Lagos

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

A conservação dos ecossistemas aquáticos continentais, visando sua utilização racional, é um dos aspectos centrais do estudo dos lagos (Esteves, 1998). Conservar estes ambientes significa manter suas condições naturais para que possam ter seus múltiplos usos garantidos. Entre estes destacam-se: fornecer água para abastecimento (doméstico e industrial), para fins de pesquisa, para geração de energia elétrica, para produção de alimentos para homens e animais, e para o lazer (natação, pescaria, etc.).

Nas últimas décadas, o estudo do ambiente aquático passou a ser considerado fundamental, devido ao aumento das atividades humanas, de um lado poluindo nossos rios e lagos e, de outro, necessitando de água não poluída para seu consumo (Assumpção *et al.*, 1981).

1.2 Lipídeos: Correlação com as fontes aquáticas e terrestres

Uma grande variedade de compostos orgânicos são encontrados em um ambiente sedimentar. Muitos são provenientes de vegetações próximas à área de deposição e podem ser carregados para uma lagoa através da ação dos ventos ou chuvas. Outros podem ser transportados por longas distâncias pelos rios. A matéria orgânica que forma o sedimento

pode ser considerada autóctone quando é proveniente das proximidades ou do próprio local de deposição; ou alóctone se transportada de outro ambiente. Entretanto, estes termos devem ser usados com cuidado, pois material de origem alóctone geralmente é confundido com plantas terrestres, o que não é verdade. Em mangues, por exemplo, plantas superiores têm grande contribuição autóctone. Entradas autóctones normalmente incluem restos de fitoplâncton ou de organismos que se alimentam direta ou indiretamente do fitoplâncton que vive na coluna d'água ou nos primeiros centímetros de sedimento (Killops & Killops, 1993).

Os lipídeos preservados em sedimentos têm sido chamados de biomarcadores (ou compostos marcadores biológicos) por estarem ligados, de alguma forma, aos seus precursores biológicos (Killops & Killops, 1993). Os lipídeos encontrados em sedimentos de lagoas costeiras podem ser de origem aquática (provenientes das membranas celulares do fitoplâncton e zooplâncton) e terrestre (provenientes de plantas superiores, encontrados em ceras, ligninas, cutina e suberina - Meyers & Ishiwatari, 1993).

Os lipídeos podem ser definidos como todas as substâncias produzidas por organismos que são insolúveis em água mas que podem ser extraídas por solventes orgânicos que dissolvem gorduras.

As gorduras são triacilgliceróis formados a partir de três ácidos graxos alifáticos. Cada um destes ácidos graxos em um triglicerídeo pode ser diferente, sendo tipicamente de cadeia longa entre 12 e 36 átomos de carbono. Em animais são saturados e contêm 16 e 18 átomos de carbono, enquanto que ácidos poliinsaturados são mais comuns em algas do que em plantas superiores. Muitos desses compostos, como os alcanos e os ácidos graxos com número de átomos de carbono acima de 20, por exemplo, encontram-se bem preservados no sedimento.

Os ácidos encontrados na natureza possuem preferencialmente um número par de átomos de carbono, isto devido a sua síntese, na qual estes são formados a partir do acetil, que possui duas unidades de carbono (C_2), um derivado da glicose.

As cêras das plantas também podem conter hidrocarbonetos, principalmente de longas cadeias alifáticas. Em contraste com os alcóois e ácidos, os hidrocarbonetos contêm preferencialmente números ímpares de carbono mais abundantes do que os pares, como resultado da biossíntese destes, na qual o ácido é descarboxilado (Killops & Killops, 1993).

Preferencial de Carbono, Razão Terrestre-Aquático, razão C/N, entre outros. Os resultados das análises químicas de constituintes orgânicos sedimentados podem diferenciar se os compostos são oriundos de fora ou de dentro do corpo lagunar.

Madureira e colaboradores (1995) relacionam vários destes índices. Dos mais importantes para este estudo, pode-se citar os Índices Preferenciais de Carbono (IPC):

Para os alcanos

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

Para os ácidos graxos

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

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

Outro índice bastante utilizado está baseado na abundância e origem de certos grupos lipídicos, tais como, os alcanos e os ácidos graxos, e é chamado de RTA (Razão entre a matéria de origem terrestre e aquático). A presença de alcanos C_{27} , C_{29} e C_{31} em extratos de sedimentos indica que ceras de plantas superiores são uma importante fonte de lipídeos para estes sedimentos. Por outro lado, a contribuição de algas é indicada pela presença dos alcanos C_{15} , C_{17} e C_{19} . Portanto:

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

De maneira análoga, os ácidos graxos C_{24} , C_{26} e C_{28} têm origem terrestre e apesar dos ácidos graxos C_{12} , C_{14} e C_{16} também serem produzidos pelas plantas, eles são predominantemente de origem aquática. Então:

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

Dessa forma, se $RTA > 1$, há provavelmente uma deposição predominante de matéria orgânica terrestre, e se $RTA < 1$, a matéria orgânica sedimentada é predominantemente aquática (Bourbonniere & Meyers, 1996).

A razão C/N é amplamente utilizada para determinar a origem da matéria orgânica em que contribuições de plantas superiores, fitoplâncton e zooplâncton podem ser indicadas (Meyers & Ishiwatari, 1993; Colombo *et al.*, 1996). Esta razão indica a presença de celulose proveniente de plantas superiores em sedimentos. Plantas aquáticas não vasculares têm razão C/N entre 4 e 10, enquanto plantas terrestres vasculares que contêm celulose, apresentam razão superior a 20 (Meyers & Ishiwatari, 1993). Outra importância da razão C/N é a caracterização dos sedimentos lacustres como sendo do tipo "Gyttja" (Copoprel, $C/N < 10$) ou do tipo Distrófico (Dy, $C/N > 10$; Porto Filho, 1993). Os do tipo "Gyttja" consistem de uma mistura de material húmico, fragmentos de plantas, restos de algas (matéria autóctone), grãos do tipo quartzo e mica, enquanto que os do tipo Dy, são usualmente referenciado como amarelo-marrom, floculento, derivado de plantas fibrosas de origem alóctone (Cole, 1979; Esteves, 1998).

2. OBJETIVOS

- Identificar e caracterizar os lipídeos de procedência terrestre e aquática presentes nos sedimentos de fundo da Lagoa do Ribeirão Grande, localizada no município de Paulo Lopes, SC, através de três perfis.
- Avaliar a composição orgânica dos sedimentos que indiquem sua origem, tais como: hidrocarbonetos, ácidos graxos, álcoois, entre outros.
- Determinar o percentual de Carbono orgânico e Nitrogênio total, bem como a razão entre estes, e de outros índices (IPC e RTA) envolvendo lipídeos nos perfis coletados a fim de se averiguar a origem da matéria orgânica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Solventes, reagentes e padrão utilizados

Os solventes de grau analítico utilizados foram: álcool metílico, etanol, ácido clorídrico e diclorometano, adquiridos da Carlo Erba Reagenti.

Os reagentes de grau analítico: hidróxido de potássio e sulfato de sódio anidro foram adquiridos da Nuclear - CAQ Casa da Química Ltda. O cloreto de acila e N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA) foram adquiridos de Riedel-de Haen e Sigma, respectivamente.

O composto 5- α -colestano, proveniente da Sigma, foi utilizado como padrão interno nas análises dos lipídeos.

3.2 Limpeza da vidraria

A vidraria a ser utilizada foi imersa em solução de água e detergente e fervida por 30 minutos. Em seguida, após enxágue em água corrente, os vidros foram imersos em uma solução hidroalcoólica preparada a partir de 100g de hidróxido de potássio e 1 litro de água e etanol (1:1), lavados novamente com água em abundância e água destilada, e secos em estufa.

3.3 Instrumentação

Os sedimentos foram liofilizados em um Liofilizador Edwards e pesados em uma balança Mettler H80Precision modelo PR 1000.

Os tubos contendo sedimento e mistura de solventes foram colocados em ultra-som Cleaner (USC 1450) e centrifugados em uma centrífuga Excelsa Baby modelo¹¹ 206/2.P

As soluções foram evaporadas em um rotaevaporador Fisatom. (MOD 802D)

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo da Shimadzu, modelo GC17A. A coluna capilar utilizada foi a CPSil5-CB, da Chrompack, de 50m x 0,32 mm d.i. e 0,25 µm de espessura de fase. As condições de análise foram as seguintes: *Temperatura*: injetor 280°C, detector 320°C, programação do forno inicial a 40°C com rampa de aquecimento a 10°C.min⁻¹ até 200°C seguida de nova rampa a 4°C.min⁻¹ até 310°C com isoterma de 20 min. *Gases*: gás de arraste N₂ a uma vazão de 2mL.min⁻¹, pressão de H₂ a 50kPa, ar a 40 kPa e make-up (N₂) a 50kPa. Injetor com divisor de fluxo sendo que as amostras foram injetadas no modo splitless (0,50 min). Também foi utilizado um cromatógrafo gasoso de mesma marca, modelo GC14A, acoplado a um espectrômetro de massas marca Shimadzu, modelo GCMS-QP2000 A. Para as análises no espectrômetro de massas foi usada uma coluna CBP1, da Shimadzu, com 30m x 0,25 mm d.i. e 0,25 µm de espessura de fase. As condições de análise foram as mesmas descritas anteriormente com exceção do gás de arraste, que foi usado o He. O modo de ionização foi por impacto e elétrons (70eV) e varredura de m/z 40 a 500 a cada dois segundos.

A análise elementar (CHN) dos sedimentos foi realizada em um Analisador Elementar CHN Perkin Elmer modelo 2400.

3.4 Amostragem

3.4.1 Área de estudo

A Lagoa do Ribeirão Grande está localizada no município de Paulo Lopes, na região sul do estado de Santa Catarina (Figura 1).

Por estar situada dentro de uma área de preservação do Ibama, esta lagoa é um ótimo local para se avaliar a extensão com que são preservados alguns lipídeos de procedência terrestre e aquática.

É importante ressaltar que próximo ao corpo d'água encontra-se um aterro sanitário, onde há cerca de dez anos era depositado o lixo de parte da grande Florianópolis.

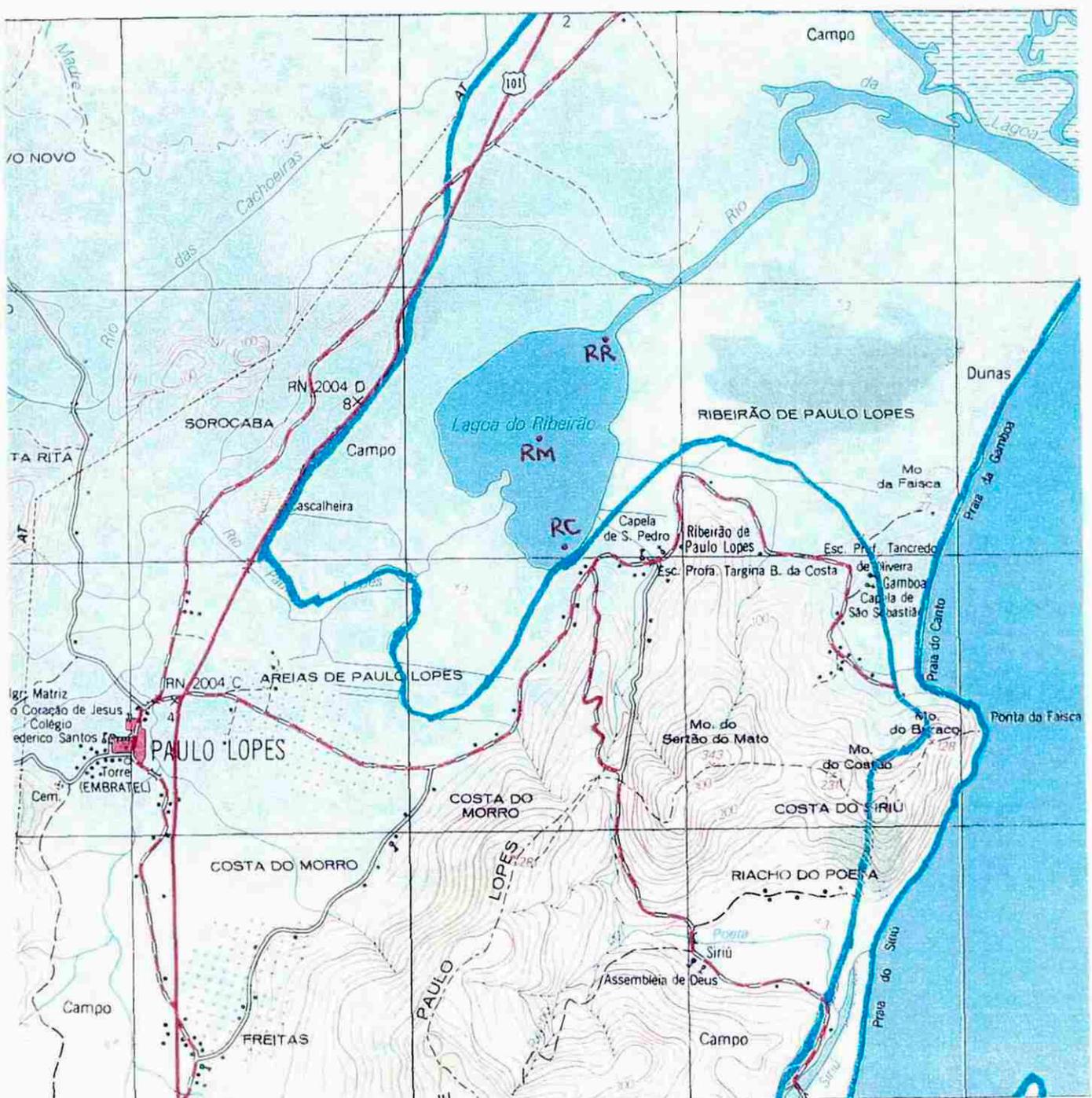


Figura 1 - Localização da Lagoa do Ribeirão Grande, no município de Paulo Lopes – SC e os pontos de amostragem dos três perfis.

3.4.2 Coleta das amostras

A coleta dos perfis provenientes da Lagoa do Ribeirão Grande foi realizada com tubos de PVC (1m x 6cm) em três pontos da lagoa: próximo a uma das margens (RC), no centro (RM) e na desembocadura de um rio que deságua na lagoa (RR) (Figura 1). Em cada ponto de coleta foram retirados perfis em duplicata.

Após chegada no laboratório, os tubos foram armazenados em um freezer e mantidos congelados até o momento da análise. Ainda congelados, os tubos foram abertos e as amostras fatiadas em intervalos de 3 cm, ao longo dos primeiros 15 cm, e em intervalos de 5 cm até o final de cada um deles. Devido ao baixíssimo teor de matéria orgânica existente nos perfis coletados na desembocadura do rio e na margem, só foi possível analisar o perfil do centro (RM).

3.5 Análise de lipídeos

A Figura 2 mostra o esquema do procedimento realizado para as análises de lipídeos. Após as amostras serem liofilizadas, subamostras de 7g de sedimento de profundidades diferentes foram pesadas em tubos de ensaio com seguida adição do padrão 5- α -colestano (40 μ L da solução padrão com concentração de 1,8 mg. mL⁻¹).

Uma mistura de solventes (metanol e diclorometano 1:1) foi preparada e um volume equivalente ao dobro de amostra de sedimento seco foi adicionado nos tubos de ensaio. Estes foram levados ao ultra-som durante 15 minutos para realizar as extrações. Os tubos contendo sedimento e solventes foram então centrifugados e o sobrenadante de cada tubo coletado em balões. Para uma total extração, adicionou-se apenas diclorometano ao sedimento e efetuou-se a extração por mais duas vezes. Os sobrenadantes combinados nos balões de cada profundidade foram concentrados no rota-evaporador e transferidos para novos tubos de ensaio, evaporando-se o restante do solvente com auxílio de um fluxo de nitrogênio.

Com o objetivo de diminuir a polaridade dos ácidos graxos, foi feita uma reação de metilação (esterificação) para todas as amostras. Em seguida, realizou-se uma reação de derivatização (silanização) das hidroxilas dos álcoois com o intuito de que os compostos que contêm estes grupos sejam identificados mais facilmente pela presença de um pico M-15 no espectro de massas juntamente com o pico base m/z 75. Para a identificação dos ácidos graxos, na forma de ésteres metílicos, utilizou-se os fragmentos característicos m/z 74 e m/z 87. Os hidrocarbonetos foram monitorados através dos fragmentos m/z 71 e m/z 85 (Figura 3).

As injeções nos cromatógrafos (CG e CG-EM) foram feitas utilizando-se clorofórmio (cerca de 30 μL) para dissolver as amostras preparadas. Alíquotas de aproximadamente 1,2 μL foram injetadas.

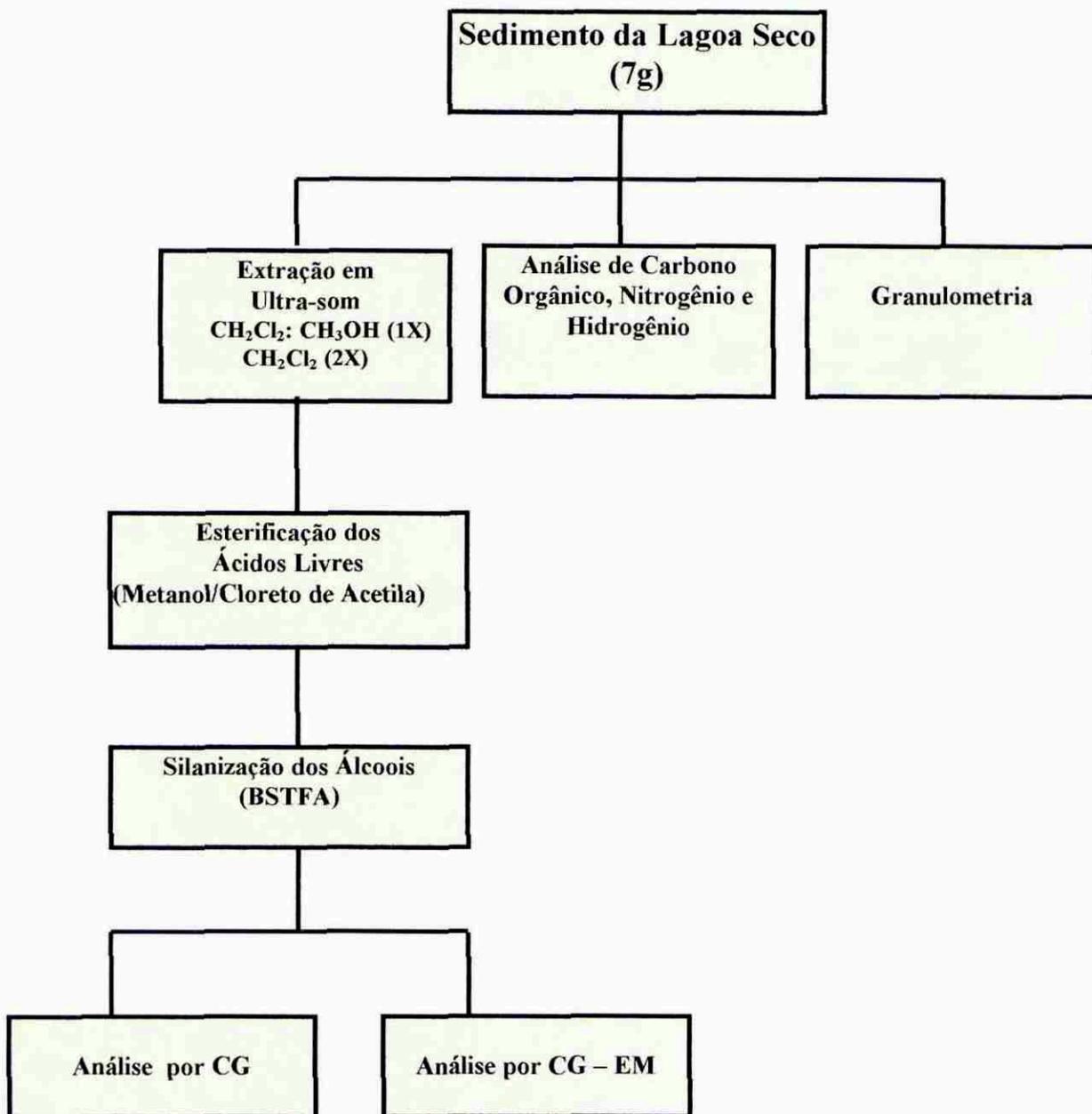


Figura 2 - Procedimento utilizado para o tratamento de amostras nas análises de lipídeos.

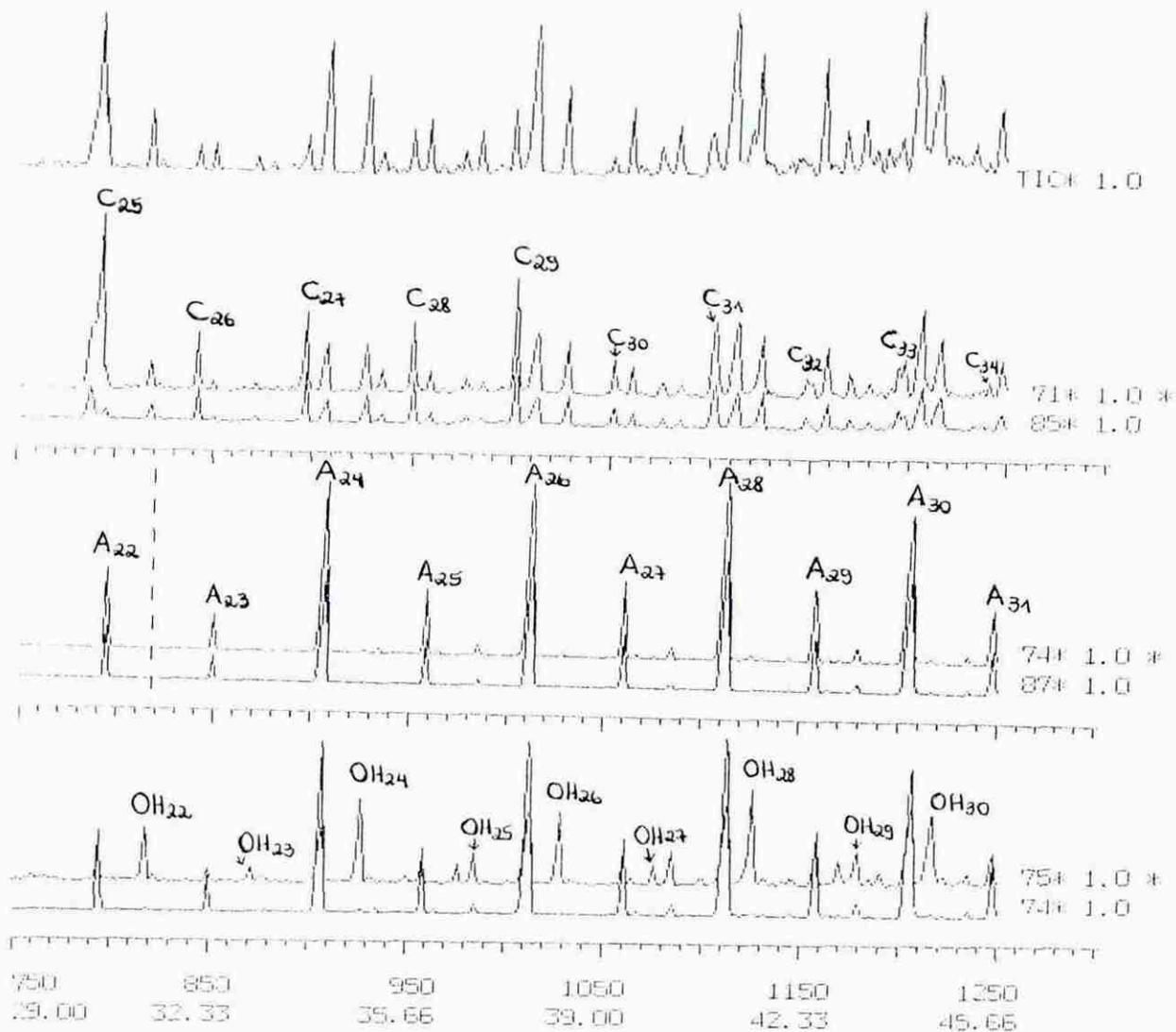
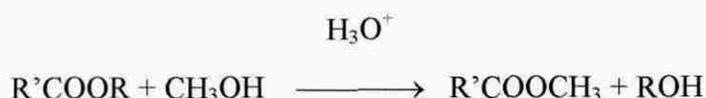


Figura 3 – Ilustração dos fragmentogramas m/z 71 e 85 (hidrocarbonetos), m/z 74 e 87 (ácidos graxos esterificados) e m/z 75 (álcoois) obtidos da profundidade 3 – 6 cm do perfil RM.

3.5.1 Reação de metilação

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



Em que:

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

O reagente é preparado em banho de gelo reagindo-se metanol gelado (aproximadamente 20 mL) com cloreto de acetila (2 mL). Em seguida, a mistura é adicionada à amostra que é então mantida em estufa por 12 horas à temperatura de 50-60 °C sob atmosfera de nitrogênio. Adiciona-se então diclorometano e uma solução de cloreto de sódio 10 %. A mistura foi agitada e centrifugada para melhor separação da fase orgânica e fase aquosa. A fase orgânica foi passada em uma microcoluna de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) a fim de se retirar qualquer resíduo de água e foi evaporada sob fluxo de nitrogênio, antes de proceder à silanização (Christie, W.W., 1982).

3.5.2 Reação de silanização

Adicionou-se cerca de 30 µL de BSTFA a cada tubo que, em seguida, foi colocado na estufa a 40 °C em atmosfera de nitrogênio (N₂). Após uma hora os tubos foram retirados e os solventes evaporados sob fluxo de nitrogênio (N₂) (Chambaz, E.M.; Horning, E.C., 1969).

3.6 Análise de Carbono, Nitrogênio e Hidrogênio

Foram selecionadas as amostras do testemunho RM com as profundidades 0-3, 3-6, 29-34 e 59-65 cm. De cada amostra retirou-se cerca de 15 mg de sedimento e adicionou-se 0,2 mL de ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹ em recipientes de vidro, para ocorrer a liberação de CO₂, caso a amostra apresentasse alguma quantidade de carbonato. As soluções foram homogeneizadas e aquecidas em um aquecedor automático a 60 ° C até a secura (Rodrigues Neto, 1998). Em seguida foram analisadas no equipamento Analisador Elementar CHN Perkin Elmer modelo 2400 da Central de Análises - UFSC.

3.7 Granulometria

A análise granulométrica dos sedimentos para o testemunho RM, coletado no centro da lagoa, foi realizada por João Sérgio, técnico do laboratório de Geociências da UFSC. Os resultados são utilizados aqui para melhor avaliação dos biomarcadores presentes no sedimento da lagoa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta parte do trabalho serão apresentados os valores das concentrações de lipídeos, carbono orgânico, nitrogênio e hidrogênio, análise granulométrica do testemunho coletado no centro da Lagoa do Ribeirão Grande, o qual é citado como testemunho RM. Além disso, serão colocadas as interpretações destes resultados com relevância biogeoquímica.

4.1. Análise de CHN

As análises de CHN foram realizadas para o testemunho RM em algumas profundidades devido a problemas de custo. A razão C/N está apresentada na Tabela 1. Os valores de Carbono estão compreendidos entre 21,46 e 5,62 %, os de Nitrogênio entre 2,94 e 1,80 % e os de Hidrogênio variam entre 9,07 e 4,80 %. Os valores da razão entre Carbono e Nitrogênio estão entre 7,3 para a superfície (0-3 cm) e 3,1 para a profundidade (59-65 cm). Conforme descrito por Cole (1979), o sedimento é do tipo copropel quando a razão C/N é menor ou em torno de 10 nos primeiros centímetros de sedimento. Portanto o sedimento estudado pode ser classificado como sendo copropel, ou seja, sedimento de uma mistura de material húmico, fragmentos de plantas, com uma maior quantidade de restos de algas, sendo a matéria orgânica deste predominantemente de origem autóctone.

Tabela 1 – Intervalos das profundidades com os percentuais de Carbono Orgânico, Nitrogênio e Hidrogênio, e razão entre os percentuais de Carbono e Nitrogênio do testemunho RM

Profundidade (cm)	C (%)	N (%)	H (%)	C/N
0 – 3	21,5	2,9	9,0	7,3
3 – 6	13,8	2,3	5,8	6,1
29 – 34	6,7	2,0	1,2	3,4
59 – 65	5,6	1,8	4,8	3,1

4.2 Granulometria

Os resultados da composição granulométrica do sedimento para as profundidades 0-3, 3-6, 14-19, 29-34 e 39-44 cm do perfil RM estão apresentados na Figura 4. O perfil granulométrico na superfície 0 – 3 cm foi representado principalmente por silte (65,4 %) seguido de areia (17,8 %) e argila (16,8 %). Ao longo do perfil até a profundidade 29 – 34 cm, observa-se um aumento gradativo da fração de areia e diminuição das frações de silte e argila. No entanto, na profundidade 39 – 44 cm observou-se maior equilíbrio entre as diferentes classes granulométricas, na qual a fração de areia foi menos representativa (27,8%), seguida por silte (36,2 %) e argila (36,1 %).

Apenas a porcentagem de argila em cada profundidade será considerada para o cálculo das concentrações de lipídeos presentes no sedimento, pois considera-se que a matéria orgânica está mais adsorvida em argila do que em silte e areia. Isto se deve ao fato de partículas de areia e silte se incorporarem primeiro no sedimento, pois estas possuem diâmetro de partícula maiores (areia entre 2–0,05 mm e silte entre 0,05-0,002 mm), sendo portanto mais pesadas do que partículas de argila que possuem um diâmetro menor do que 0,002 mm.

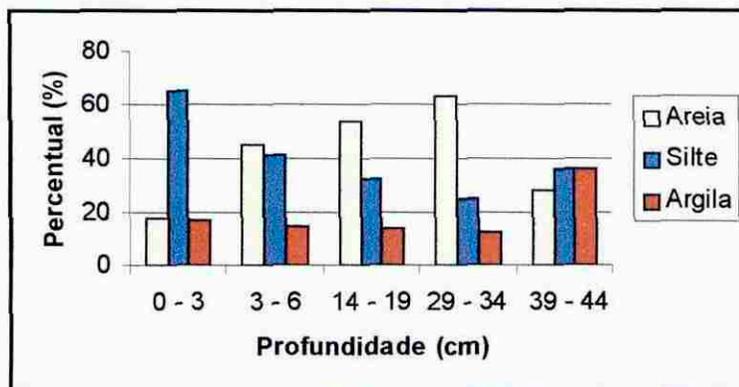


Figura 4 – Distribuição granulométrica do sedimento nos intervalos das profundidades 0-3, 3-6, 14-19, 29-34 e 39-44 cm do perfil RM.

4.3 Lipídeos

4.3.1 Identificação de compostos orgânicos

Entre os grupos de compostos orgânicos encontrados destacam-se os hidrocarbonetos, ácidos graxos e álcoois, a maioria de cadeias longas, acima de vinte átomos de carbono, que são procedentes de plantas terrestres (Figura 5). Os compostos de origem aquática presentes nos sedimentos são provenientes de microalgas, como os esteróis e os ácidos graxos com cadeias menores do que vinte átomos de carbono (Figura 6) (Volkman, 1989).

Em relação aos poluentes, não há indícios da presença de hidrocarbonetos procedentes de combustíveis fósseis, como os policíclicos aromáticos, pois na presença destes, os alcanos têm uma distribuição linear, em que a razão entre os compostos com número de átomos de carbono par e ímpar é próximo a 1 (Farrington & Tripp, 1977). Em relação aos pesticidas e herbicidas não podemos concluir nada, pois a técnica e os instrumentos empregados neste trabalho não foram específicos para estes compostos.

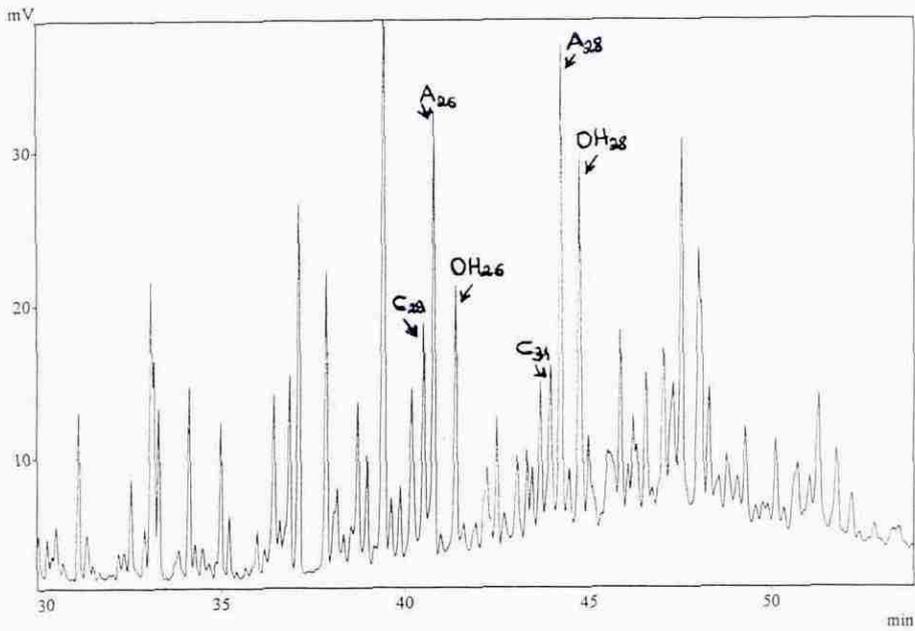


Figura 5 - Cromatograma do extrato total da profundidade 0 - 3 cm do perfil RM. Os símbolos representam os hidrocarbonetos C₂₉ e C₃₁, os ácidos graxos A₂₆ e A₂₈ e os álcoois OH₂₆ e OH₂₈.

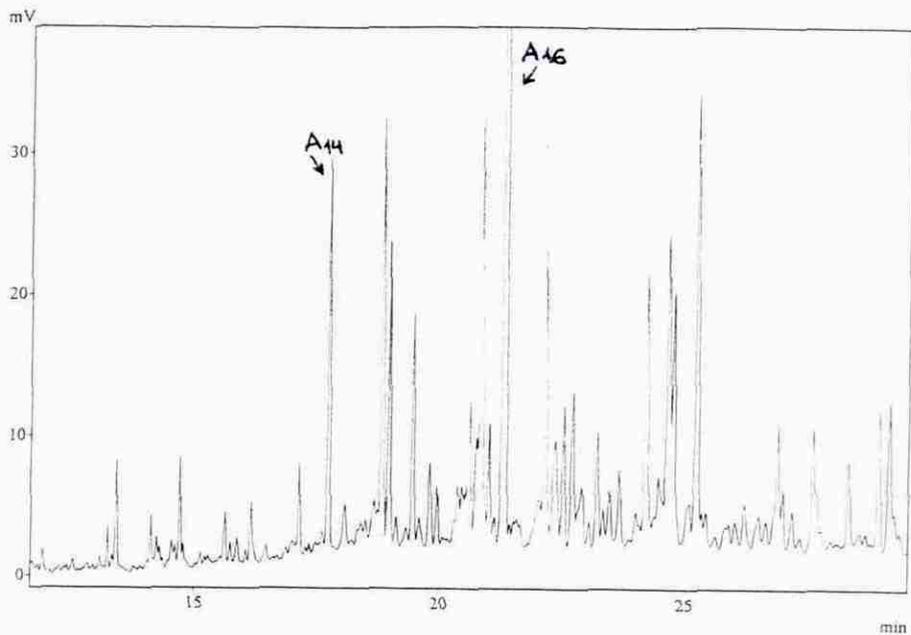


Figura 6 - Cromatograma da profundidade 0 - 3 cm do perfil RM, apresentando os ácidos graxos de origem aquática A₁₄ e A₁₆.

Na Tabela 2 encontram-se as concentrações dos hidrocarbonetos C₂₇, C₂₉ e C₃₁, dos ácidos A₂₄, A₂₆ e A₂₈ e dos álcoois OH₂₄, OH₂₆ e OH₂₈ (todos atribuídos à matéria orgânica de origem terrestre) com a profundidade, considerando apenas a quantidade de argila obtida na análise da composição granulométrica do sedimento.

Tabela 2 – Intervalos das profundidades com as concentrações de alguns dos compostos de origem terrestre em $\mu\text{g. g}^{-1}$ de argila.

Prof. (cm)	Alcanos ($\mu\text{g. g}^{-1}$)			Ácidos ($\mu\text{g. g}^{-1}$)			Álcoois ($\mu\text{g. g}^{-1}$)		
	C27	C29	C31	A24	A26	A28	OH24	OH26	OH28
0 – 3	26,8	32,5	34,6	42,8	43,4	47,5	32,0	24,2	58,6
3 – 6	26,5	27,8	27,0	39,0	49,1	54,5	30,7	27,0	47,0
14 – 19	6,9	5,1	6,6	7,0	3,3	4,6	11,2	9,5	11,5
29 - 34	14,4	15,3	8,5	12,1	7,4	15,8	8,0	8,0	4,4
39 – 44	0,8	2,1	1,7	0,9	1,8	3,2	2,4	2,8	5,8

A partir destas concentrações pode-se verificar a distribuição destes compostos de origem predominantemente terrestre no testemunho RM com a profundidade (Figura 7). Tanto os hidrocarbonetos, como os ácidos e álcoois, têm concentrações mais altas na superfície (0 - 3 cm) e menores concentrações até 10 cm de profundidade. No entanto, seria de se esperar um decréscimo constante nas concentrações dos biomarcadores com a profundidade, mas isto acontece apenas para os álcoois. Na distribuição dos hidrocarbonetos e ácidos, ocorre um aumento das concentrações no intervalo de 29 a 34 cm, sendo em seguida reduzido novamente para valores mais baixos (39 – 44 cm). Rodrigues (1998) reporta que um aumento na subinterface pode ser devido ao fato dos ácidos serem biossintetizados por microrganismos na camada superior do sedimento, e como estes microrganismos dependem da quantidade de oxigênio disponível no sedimento, eles sempre migram para a interface, deixando de retrabalhar estes compostos. No entanto, essa atividade microbiana pode gerar ácidos de cadeias curtas, até 22 átomos de carbono, e não

ácidos de cadeias superiores. Portanto, é possível que o aumento observado aqui seja devido ao processo de bioturbação ou a algum outro processo desconhecido.

Em paralelo ao que fora observado para os compostos orgânicos, o percentual de carbono orgânico também diminuiu gradativamente com a profundidade (Tabela 1). No entanto, essa diminuição é menos acentuada para o nitrogênio. A diferença pode ser explicada pelo fato de que os compostos nitrogenados são biodegradados preferencialmente, restando menos compostos lábeis nas regiões mais profundas dos sedimentos em relação à superfície. Como consequência, a razão C/N, que caracteriza o tipo de sedimento, também diminuiu com a profundidade.

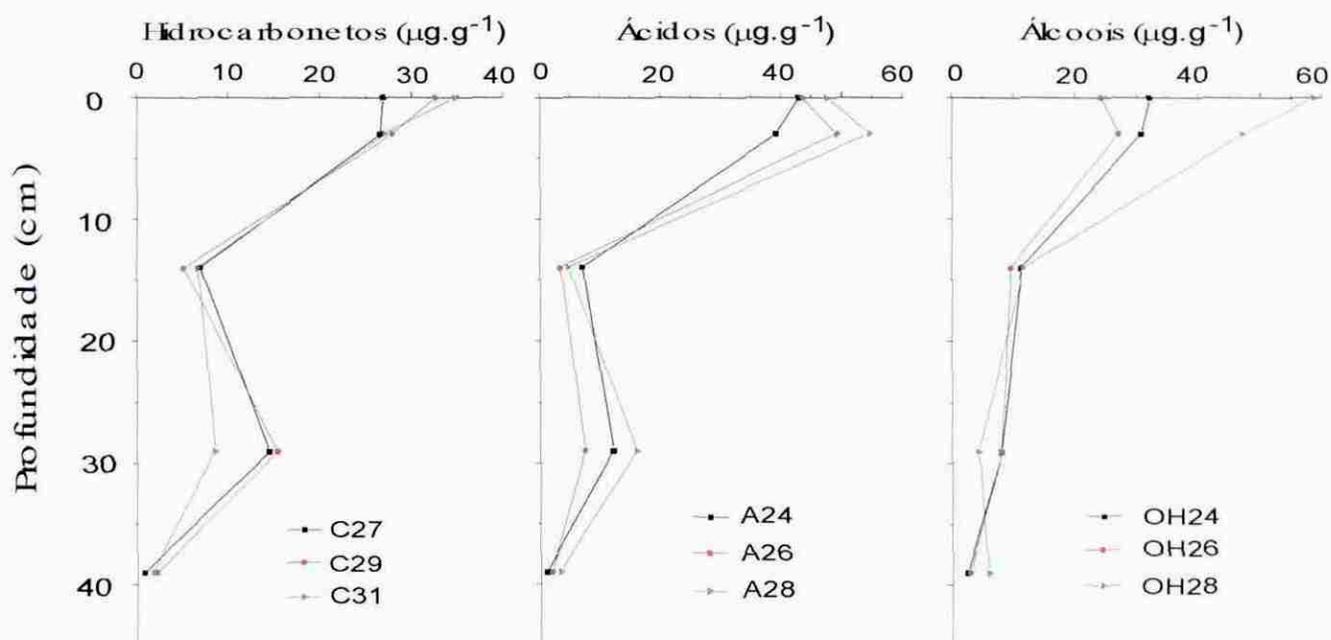


Figura 7 - Gráficos referentes às variações das concentrações ($\mu\text{g. g}^{-1}$ de argila) de alguns compostos de origem terrestre com a profundidade.

4.4 Índice Preferencial de Carbono e Razão Terrestre-Aquático

A mudança na composição lipídica dos sedimentos com a profundidade também foi acompanhada através de alguns índices como IPC (Índice Preferencial de Carbono) e RTA (Razão Terrestre-Aquático), os quais estão apresentados na Tabela 3. Esses índices levam em consideração a distribuição relativa de alguns grupos de compostos orgânicos e são úteis para monitorar possíveis mudanças devido a variações no aporte de material orgânico terrestre ou aquático. Os valores de IPC tanto para os ácidos graxos como para os hidrocarbonetos são característicos de material orgânico de origem alóctone ($IPC \geq 2$) e não variam muito com a profundidade. Este resultado é importante pois confirma a ausência de contaminantes antropogênicos como, por exemplo, os derivados de combustível fóssil. Por outro lado, o RTA calculado para os ácidos graxos foi menor do que 1, indicando abundância de certos grupos lipídicos de procedência aquática; enquanto os valores de RTA para os hidrocarbonetos são maiores do que 1, mostrando que ceras de plantas superiores são uma importante fonte de lipídeos neste sedimento. Este resultado sugere que a matéria orgânica presente no sedimento tem uma forte influência de vegetação terrestre, conforme indicado pelos hidrocarbonetos, e também aquática, devido aos ácidos graxos de cadeias curtas.

Tabela 3 - Valores dos Índices Preferenciais de Carbono (IPC) e Razão Terrestre-Aquático (RTA) para os hidrocarbonetos e ácidos graxos do perfil RM

Prof. (cm)	IPC _{Hid.}	IPC _{Acid.}	RTA _{Hid.}	RTA _{Acid.}
0 – 3	2,0	4,0	7,4	0,5
3 – 6	1,5	4,5	11,0	1,0
14 – 19	1,3	4,6	24,1	0,5
29 – 34	1,7	4,2	10,3	0,5
39 – 44	1,7	6,0	26,1	0,6
59 – 65	1,4	4,8	12,0	0,8

5. CONCLUSÕES

➤ Os resultados obtidos demonstram que a maior parte das degradações dos compostos orgânicos ocorrem na região biologicamente mais ativa, ou seja, nos primeiros 10 cm. Após esta região, há uma certa estabilidade, com pouca variação na distribuição e concentração de álcoois, porém a concentração dos hidrocarbonetos e ácidos aumentam na profundidade de 30 cm, diminuindo em seguida até 40 cm. Esta diferença de concentração pode ser devido a parâmetros que influenciam na degradação de lipídeos, tais como: a taxa de sedimentação, tamanho do grão, profundidade das lagoas, bioturbação, biossíntese dos microrganismos, entre outros.

➤ O perfil granulométrico do testemunho estudado revelou que areia, silte e argila foram os tipos de grãos mais representativos do sedimento. O percentual de areia aumenta com a profundidade, enquanto a fração de argila diminui. Na medida que o percentual de argila diminui, a concentração da matéria orgânica também diminui com a profundidade, devido aos compostos orgânicos estarem mais adsorvidos na argila, pois esta fração possui diâmetro de partícula menor e também uma composição química que auxilia na adsorção.

➤ Pelos cromatogramas obtidos de várias profundidades do testemunho RM, observa-se que biomarcadores de plantas superiores estão presentes em grande quantidade nos sedimentos analisados, indicando que em todo testemunho há contribuição de matéria orgânica de origem terrestre. Os compostos de origem aquática provenientes de microalgas, como os ácidos graxos com cadeias menores que vinte átomos de carbono, também estão presentes nos sedimentos, porém em menor quantidade.

➤ Através do Índice Preferencial de Carbono calculado, pode-se inferir que os hidrocarbonetos presentes na matéria orgânica sedimentada na Lagoa do Ribeirão Grande é de origem predominantemente terrestre. A maior quantidade de alcanos C_{27} , C_{29} e C_{31} encontrados nos extratos de sedimentos mostram que ceras de plantas superiores são uma importante fonte de biomarcadores. Porém, a Razão Terrestre-Aquático mostra que os

ácidos graxos A_{12} , A_{14} e A_{16} , predominantemente de origem aquática, são mais abundantes que os ácidos de origem terrestre A_{24} , A_{26} e A_{28} .

➤ Conclui-se que o sedimento do fundo da Lagoa pode ser caracterizado como do tipo copropel, pois a razão C/N foi menor do que 10.

➤ Não há indícios de poluição por combustível fóssil, pois não foram detectados hidrocarbonetos policíclicos aromáticos ou lineares sem predominância dos ímpares sobre os pares. Em relação a pesticidas e herbicidas, não podemos tirar nenhuma conclusão, pois as técnicas empregadas e análise utilizadas foram específicas para lipídeos.

6. BIBLIOGRAFIA

- ASSUMPÇÃO, D.T.G.; TOLEDO, A.P.P. & AQUINO, V.A. (1981). Levantamento Ecológico da Lagoa da Conceição – (Florianópolis – Santa Catarina) 1 : Caracterização Parâmetros Ambientais. **Ciência e Cultura**, 33(8), 1096-1101.
- BOURBONNIERE, R.A. & MEYERS, P.A. (1996). Sedimentary geolipid records of historical changes in the watersheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. **Limnol. Oceanogr.** V.41, N.2, p.352-359.
- CHAMBAZ, E.M.; HORNING, E.C. (1969). Conversion of steroids to trimethylsilyl derivatives for gas phase analytical studies – reactions of silylating reagents. **Anal. Biochem.**, 30: (1) – 7.
- CHRISTIE, W.W. (1982). Lipid Analysis. **Pergamon Press**. New York
- COLE, G.A. (1979). **Textbook of Limnology**. 2^a ed. The C. V. Mosby Company.
- COLOMBO, J.C.; SILVERBERG, N. & GEARING, J.N. (1996). Biogeochemistry of organic matter in the Laurentian Trough, II. Bulk Composition of the Sediments and Relative Reactivity of Major Components During Early Diagenesis. **Marine Chemistry**, 51, 295-314.
- CONTE, M. H., EGLINTON G. E MADUREIRA L.A.S. (1992). Long-chain alkenone and alkyl alkenoates as paleotemperature indicators: their production, flux and early sedimentary diagenesis in the Eastern North Atlantic. **Org. Geochem.**: 19, 287 - 298.
- ESTEVEZ, F. A. (1998). **Fundamentos de Limnologia**. Ed. Interciência Ltda. Rio de Janeiro.

- FARRINGTON, J.W. & TRIPP, B.W. (1977). Hydrocarbons in western North Atlantic surface sediments. **Geochim. Cosmochim. Acta**, 41, 1627-1641.
- KILLOPS, S.D. & KILLOPS, V.J. (1993). **An Introduction to Organic Geochemistry**. Longman Scientific & Technical. New York.
- MADUREIRA L. A. S. (1994). Lipids in Recent sediments of the eastern North Atlantic. Tese de Doutorado. Unidade de Geoquímica Orgânica. Universidade de Bristol.
- MADUREIRA, L.A.S.; CONTE, M.H. & EGLINTON, G. (1995). Early diagenesis of lipid biomarker compounds in North Atlantic sediments. **Paleoceanography**, V.10, p.627-642.
- MCCAFFREY M.A., FARRINGTON J.W. E REPETA D.J. (1991). The organic geochemistry of Peru margin surface sediments, II, Paleoenvironmental implications of hydrocarbon and alcohol profiles. **Geochim. Cosmochim. Acta**: 55, 483 - 498.
- MEYERS, P.A. & ISHIWATARI, R. (1993). Lacustrine Organic Geochemistry – overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. **Org. Geochem.**, 20 (7), 867-900.
- PORTO FILHO, E. (1993). Sedimentometria e algumas considerações sobre a biogeoquímica dos sedimentos de fundo da Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina.
- RIELEY, G.; COLLIER, R.J.; JONES, D.M. & EGLINTON, G. (1991). The biogeochemistry of Ellesmere Lake, U.K. - I - source correlation of leaf wax inputs to sedimentary lipid record. **Org. Geochem.** Vol. 17, N. 6, p. 901-912.

RODRIGUES NETO, R. (1998). Determinação de feopigmentos, proteínas solúveis e lipídeos em sedimentos da Lagoa do Peri - Ilha de Santa Catarina - SC. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina.

VOLKMAN J. K., FARRINGTON J.W. E GAGOSIAN R.B. (1987) Marine and terrigenous lipids in coastal sediments from the Peru upwelling region at 15⁰S: Sterols and triterpene alcohols. **Org. Geochem.**: 11, 463 - 477.

VOLKMAN, J.K.; JEFFREY, S.W.; NICHOLS, P.D.; ROGERS, G.I. & GARLAND, C. D. (1989). Fatty acid and lipid composition of ten species of microalgae used mariculture. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 128, 219-240.