



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E
AMBIENTAL
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
LABORATÓRIO DE MICROCONTAMINANTES ORGÂNICOS E
ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA



DETERMINAÇÃO DE MARCADORES ORGÂNICOS
NO PERFIL SEDIMENTAR DO COMPLEXO
ESTUARINO DE PARANAGUÁ (PR) POR CG-EM

NÍVEL MESTRADO

Juliana Carriconde Hernandez

Rio Grande, março de 2009

DETERMINAÇÃO DE MARCADORES ORGÂNICOS NO PERFIL SEDIMENTAR DO COMPLEXO ESTUARINO DE PARANAGUÁ (PR) POR CG-EM

por

Juliana Carriconde Hernandez

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do programa de Pós Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, Linha de pesquisa em Desenvolvimento de Metodologias e Caracterização Físico-Química de Compostos Químicos, da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), como requisito parcial para obtenção grau de
Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fillmann

Rio Grande, RS, Brasil
2009

Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós Graduação em Química Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a dissertação

**DETERMINAÇÃO DE MARCADORES ORGÂNICOS NO PERFIL
SEDIMENTAR DO COMPLEXO ESTUARINO DE PARANAGUÁ (PR)
POR CG-EM**

elaborada por
Juliana Carriconde Hernandez

como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química**

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Gilberto Fillmann (orientador - presidente)

Prof. Dr. César de Castro Martins (UFPR)

Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel (FURG)

Rio Grande, 19 de março de 2009

AGRADECIMENTOS

Sem a participação de algumas pessoas seria mais difícil e menos gratificante a conclusão deste trabalho. Pessoas estas que começarei citando abaixo.

Primeiramente agradeço a minha família, que sempre unida me deu todo apoio e incentivo de que precisei, em especial, dedico este trabalho à minha mãe, um exemplo de guerreira, que nunca desiste nem desistiu de seus objetivos.

Ao meu orientador, Gilberto Fillmann, que com toda sua experiência, soube me orientar me dando subsídios para que eu desenvolvesse meu trabalho nas melhores condições possíveis, acreditando no meu trabalho e na minha capacidade.

Jamais poderia esquecer de agradecer àquela que foi como que uma mãe no mestrado pra mim, Patrícia Costa (Pat), colega de laboratório, parceira, companheira e acima de tudo minha amiga, que esteve sempre disposta a me ajudar na realização deste trabalho, sanando dúvidas e mais dúvidas que sempre surgiam.

Não poderia deixar de lembrar de uma amiga que fiz nesses dois anos de mestrado, a Melissinha, que com certeza, foi de uma ajuda sem fim, uma 'IC' muito esforçada e dedicada. Obrigada por ser uma pessoa tão agradável e ter me recebido tão bem no laboratório. Também, não poderia esquecer da Patricinha, uma amiga que também me acolheu no laboratório, onde trabalhamos juntas todo esse tempo, agradeço pelas 'aulas' de excel e pela ajuda no inglês.

Às colegas de mestrado Helen, Dolores e Adriane, amigas pra todas as horas, obrigada pelo companheirismo e reuniões engraçadas e divertidas. Que bom encontrar amigas tão maravilhosas como vocês.

A todos do laboratório CONECO, pessoas maravilhosas de se trabalhar, conversar e interagir, obrigada por terem me acolhido tão bem no grupo.

Ao laboratório da Hidroquímica pela utilização do equipamento CHNS para as análises de carbono orgânico.

Às funcionárias do LOG, Neusa e Glória, pela realização das análises de granulometria.

Aos participantes da banca do meu exame de qualificação, constituído pelos professores Ednei Primel e Marcelo D'oca.

Ao Prof. Dr. César C. Martins, por aceitar o convite em participar de minha banca, que desde já agradeço pelas contribuições em meu trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Aos meus queridos amigos, Ju Schiller, Jacques, Raquel, Dani e Fiss, pessoas que sempre estiveram do meu lado, torcendo por mim, parceiros para o que der e vier, muito obrigada por fazerem parte da minha vida.

Por último, mas não menos importante, agradeço e muito ao meu namorado Fred, que sempre esteve do meu lado, me ajudando com o inglês que é o forte dele, além dos conselhos e palavras de apoio, entendendo quando eu passava a semana e os finais de semana estudando e escrevendo, quando ficava cansada... enfim, dedico este trabalho também a ti meu amor, pessoa que sempre me deu força para seguir adiante e nunca me deixou desanimar.

RESUMO

A avaliação do aporte de matéria orgânica no ambiente aquático por atividades antrópicas pode ser realizada através da identificação e quantificação de marcadores moleculares. Diversos estudos apontam à aplicação dos marcadores moleculares com esta finalidade, no entanto, poucos avaliam a variação das concentrações desses compostos ao longo do tempo, registrada nas camadas sedimentares. O presente trabalho realiza um estudo a partir de três classes de marcadores moleculares presentes em perfis sedimentares da região do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) no Paraná (PR), que nos últimos anos vêm sofrendo com o crescente desenvolvimento de atividades antrópicas. Como objetivo, tem-se identificar as principais fontes de matéria orgânica e estudar o histórico destes aportes em colunas sedimentares do CEP, relacionando as taxas de sedimentação com a deposição de origem natural e antrópica. A legislação vigente para o monitoramento ambiental, no que diz respeito à contaminação por esgoto fecal, sugere a avaliação por indicadores microbiológicos, porém, indicadores químicos como os esteróides fecais são uma alternativa bastante promissora, pois estes são persistentes, sendo menos sensíveis a variações ambientais. Outros dois marcadores moleculares de aportes antrópicos ao ambiente que foram determinados neste estudo são os alquilbenzenos lineares (LABs), presente em detergentes, que indicam aportes antrópicos oriundos de esgoto doméstico e a determinação de cafeína, tendo em vista que os esteróides fecais podem ser originários de fezes de animais de sangue quente, podendo indicar outras fontes. Para o presente trabalho foram coletados 12 testemunhos de até 1 m de profundidade em maio de 2006, totalizando 12 pontos de coleta e um montante de 121 amostras. As análises foram realizadas por cromatografia em fase gasosa com detecção por espectrometria de massas (CG-EM). Os esteróides encontrados em maior concentração foram o β -sitosterol ($71,4 \mu\text{g g}^{-1}$), estigmasterol ($8,7 \mu\text{g g}^{-1}$), colestanol ($3,6 \mu\text{g g}^{-1}$) e o estigmastanol ($2,8 \mu\text{g g}^{-1}$), todos oriundos de fonte natural, indicando que a maior contribuição para o CEP é por aporte biogênico. O coprostanol, que é um esteroide fecal, foi encontrado entre as concentrações de $0,001$ e $4,10 \mu\text{g g}^{-1}$, outros dois esteróides de origem fecal também foram detectados, coprostanona e epicoprostanol, onde as maiores concentrações foram $3,6$ e $0,2 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, sendo encontrados em regiões próximas a centros urbanos, indicando origem antrópica. As maiores concentrações para o Σ LABs também foram encontradas em regiões próximas às cidades de Antonina e Paranaguá, sendo a maior encontrada no testemunho #3 Gererês (208 ng g^{-1}). Para o último marcador molecular analisado, a cafeína, foi encontrada a maior concentração de $18,41 \text{ ng g}^{-1}$, sendo este ponto localizado longe dos centros urbanos, porém este contaminante é bastante solúvel em água podendo ser transportado na coluna d'água e percorrer grandes distâncias. Através dos compostos analisados, pode-se perceber que a intervenção antropogênica foi mais marcante nos testemunhos coletados no eixo leste-oeste do CEP, ficando registrado nas camadas sedimentares.

Palavras-chave: marcadores moleculares; perfil sedimentar; Paranaguá

ABSTRACT

The input evaluation of the organic matter in aquatic environment by anthropic activity can be done by the identification and quantification of molecular markers. Many studies point the application of the molecular markers for this objective but few of them evaluate the variation of the compound concentration through a long period of time registered on the sedimentary layers. The present work elaborates a study using three molecular markers on the sedimentary profile of the Paranaguá Estuary Complex (CEP) at Paraná, which in the later years the anthropic activity has been raising. This work has as objective to identify the main sources of organic matter and to study the background of these inputs on the CEP sedimentary column relating the sedimentation rates with the natural and anthropic deposition. The valid legislation for the environmental watching, in the matter of fecal sewer contamination, suggests and evaluation by chemical indicators such as fecal steroids (ex: coprostanol), it is a very promising alternative because theses are endurable, even being less sensitive to environmental variations. The other two environmental anthropic input molecular markers which will be determined in this study are the linear alkylbenzenes (LABs), existing on detergents, which indicates anthropic inputs derived from domestic sewer and caffeine, being aware that fecal steroids can be obtained by warm blooded animal excrement, indicating other sources. For the present work, were collected 12 cores with depth down to 1 m in the date of may, 2006, summing up 12 assessing points and a quantity of 121 samples. The analyses were made by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The steroids found with higher concentration were β -sitosterol ($71.4 \mu\text{g g}^{-1}$), stigmasterol ($8.7 \mu\text{g g}^{-1}$), cholesterol ($3.6 \mu\text{g g}^{-1}$) and stigmastanol ($2.8 \mu\text{g g}^{-1}$), all of them derived from natural sources, indicating that the main CEP contribution is by biogenic input. Coprostanol, which is a fecal steroid, was found in concentrations between 0.001 e $4.10 \mu\text{g g}^{-1}$, other two fecal derived steroids were also detected, epicoprostanol and coprostanone, with concentration 3.6 e $0.2 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively, these higher concentrations were found near urban area, indicating anthropic origin. The higher ΣLAB concentrations were also found in regions near the city of Antonina and Paranaguá, being the most found in the core #3 Gererês (208 ng g^{-1}). The last molecular marker analyzed, the caffeine, was found in its higher concentration, 18.41 ng g^{-1} , this point being located far off from urban centers, but this contaminant, very soluble, can be transported in water column and travel great distances. Through the analyzed compounds, can be noticed that the antropogenic intervention stood out on the collected cores of CEP east-west axis, staying registered on the sedimentary layers.

Keywords: molecular markers, sedimentary core, Paranaguá

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Fórmula para o cálculo da razão entre isômeros do C ₁₂ -LAB	14
Equação 2- Percentual de degradação dos LABs.....	14
Equação 3 - Linearidade	34
Equação 4 - Limite de Detecção	34
Equação 5 - Limite de Quantificação.....	34
Equação 6 – Desvio padrão absoluto.....	36
Equação 7 – Coeficiente de variação relativa do padrão	36
Equação 8- Percentual de Recuperação (exatidão).....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Biossíntese dos esteróides a partir do precursor esqualeno (Stefens, 2006)	5
Figura 2- Estrutura básica dos esteróides (Martins, 2001).....	6
Figura 3 – Etapas de transformação do colesterol (adaptado de Takada & Eganhouse, 1998)	10
Figura 4 – Estrutura do alquilbenzeno linear 6-C ₁₂ -LAB.....	12
Figura 5 – Fórmula estrutural da cafeína	16
Figura 6 – Área de estudo e pontos de amostragens no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP)	21
Figura 7 - Testemunhador utilizado na coleta dos testemunhos	23
Figura 8 - Testemunhos sendo seccionados ao meio e sendo fatiados em camadas de 2 cm de espessura.....	23
Figura 9 - Reação de derivatização dos esteróis (Martins, 2001)	27
Figura 10 – Analisador CHNS Perkin Elmer 2400 Série II	32
Figura 11 – CG-EM Perkin Elmer Modelo Clarus 500 MS	39
Figura 12 – Cromatogramas (CG-EM modo <i>Scan</i>) das análises dos 6 LABs com íons <i>m/z</i> 92 com diferentes rampas de temperatura.	42
Figura 13 – Curvas analíticas dos LABs (1-C ₁₀ , 1-C ₁₁ , 1-C ₁₂ , 1-C ₁₃ , 1-C ₁₄ e 1-C ₁₉) geradas, referente a curva baixa (0,2 a 50 ng mL ⁻¹)	44
Figura 14 – Curvas analíticas dos LABs (1-C ₁₀ , 1-C ₁₁ , 1-C ₁₂ , 1-C ₁₃ , 1-C ₁₄ e 1-C ₁₉) geradas, referente a curva alta (50 a 4000 ng mL ⁻¹)	45
Figura 15 – Exemplo de três corridas da Fração 1 (F1), no modo <i>Scan</i> , no qual os hidrocarbonetos alifáticos (<i>m/z</i> 57) e os LABs (<i>m/z</i> 92) são obtidos, demonstrando a seletividade do método	48
Figura 16 – Exemplo de picos sobrepostos de uma mesma concentração para checar a repetibilidade dos LABs (corridas no modo <i>Scan</i>), onde aparecem os íons <i>m/z</i> 92 e acima destes os tempos de retenção dos 6 LABs (n=7)	49
Figura 17 – Curvas analíticas dos esteróides (inclusive do padrão interno 5 α -colestano) e da cafeína, referentes à curva baixa (5-100 ng mL ⁻¹)	53
Figura 18 - Curvas analíticas dos esteróides (inclusive do padrão interno 5 α -colestano) e da cafeína, referentes à curva alta (100-4000 ng mL ⁻¹)	54
Figura 19 - Taxas de sedimentação e datação para os testemunhos analisados #2 Félix, #3 Gererês, #4 Bóia 2 e #11 Benito.....	59
Figura 20 – Dados de granulometria para os 12 testemunhos sedimentares coletados no CEP.....	61
Figura 21 – %Carbono Orgânico Total (%COT) para os 12 testemunhos analisados no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP).....	64
Figura 22 – Correlação entre os sedimentos finos (silte e argila) e % carbono orgânico total (%COT) para os testemunhos coletados no CEP.....	65

Figura 23 – Percentual relativo das séries homólogas dos LABs encontrados em cada camada sedimentar	67
Figura 24- Concentração (ng g^{-1} peso seco) do somatório dos LABs (ΣLABs) por camada para os testemunhos do CEP.....	69
Figura 25 – Concentração (ng g^{-1} peso seco) de cada série homóloga de LAB por camada sedimentar.....	73
Figura 26 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #1 Ponta da Graciosa - Antonina, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	78
Figura 27 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #2 Félix, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	79
Figura 28 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #3 Gererês, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	80
Figura 29 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #4 Bóia 2, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	81
Figura 30 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #5 Anhaia, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	82
Figura 31 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #6 Itiberê, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	83
Figura 32 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #7 Cotinga, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	84
Figura 33 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #8 Papagaio, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol	85

Figura 34 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #9 Ilha do Mel, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanonona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol86

Figura 35 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #10 Itaqui, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanonona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol87

Figura 36 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #11 Benito, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanonona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol88

Figura 37 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #12 Guapicum, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanonona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol89

Figura 38 – Concentração (ng g^{-1} peso seco) de cafeína para os 12 testemunhos coletados no CEP100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Nome, fórmulas estrutural e molecular, CAS nº e ponto de fusão dos esteróides quantificados neste estudo	8
Tabela 2: Fórmulas estrutural e molecular, CAS nº, pontos de fusão e de ebulição e log K_{ow} (logarítmo do coeficiente de partição octanol-água) dos alquilbenzenos analisados no presente trabalho.....	15
Tabela 3: Dados referentes aos testemunhos coletados em maio de 2006.....	22
Tabela 4: Compostos utilizados no preparo dos padrões externo, interno e de recuperação, bem como o fornecedor do padrão, grau de pureza, código do lote e validade do padrão.....	29
Tabela 5: Escala de Wentworth para granulometria.....	31
Tabela 6: Relação dos compostos analisados, suas massas moleculares (MM), tempos de retenção (t_R) e seus respectivos íons de quantificação (Q) e confirmação (C 1, C 2 e C3)	40
Tabela 7: Condições cromatográficas dos testes realizados para a obtenção da melhor separação por CG-EM dos 6 LABs analisados em um menor tempo de corrida, onde as letras a, b e c representam os testes realizados a partir de uma corrida original (d)	42
Tabela 8: Concentrações dos 6 padrões de LABs para a curva alta, calculados separadamente, para o teste de linearidade ($n=7$).....	43
Tabela 9: Concentrações dos 6 padrões de LABs para a curva baixa, calculados separadamente, para o teste de linearidade ($n=7$).....	43
Tabela 10: Resultados das concentrações (curva alta) que obtiveram linearidade de acordo com o cálculo da equação 3, bem como, os coeficientes de determinação (r^2), angular (a) e linear (b) para cada LAB analisado ($n=7$).....	46
Tabela 11: Resultados das concentrações (curva baixa) que obtiveram linearidade de acordo com o cálculo da equação 3, bem como, os coeficientes de determinação (r^2), angular (a) e linear (b) para cada LAB analisado ($n=7$).....	46
Tabela 12: Coeficientes linear (S) e angular (s), Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), Limite de Quantificação (LQ) com a amostra 15 vezes concentrada (que consistiu em dividir os LQ por 15), das curvas analíticas obtidas através de determinações de padrões de LABs ($n=7$)	47
Tabela 13: Resultados da precisão em termos de repetitividade (%RSD _r) do método e do instrumento e o percentual de recuperação (%R), referente a análise das amostras fortificadas com 3 diferentes níveis de concentrações.....	49
Tabela 14: Resultados de precisão em termos de precisão intermediária em relação ao percentual do coeficiente de variação (%CV) ou desvio padrão relativo (%RSD _{pi}), para cada LAB obtido através de nove repetições	49
Tabela 15: Percentuais de recuperação (R%) e desvio padrão relativo (RSD%) para os alquilbenzenos lineares (LABs) ($n=3$).....	50
Tabela 16: Concentrações dos 13 padrões (esteróides e cafeína), calculados separadamente, para o teste da linearidade referente à curva baixa ($n=7$)	51

Tabela 17: Concentrações dos 13 padrões (esteróides e cafeína), calculados separadamente, para o teste da linearidade referente à curva alta (n=7)	52
Tabela 18: Coeficientes linear (S), angular (s) e determinação (r^2), Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), Limite de Quantificação (LQ) com a amostra 15 vezes concentrada (que consistiu em dividir os LQ por 15) dos esteróides e da cafeína (n=7)	55
Tabela 19: Resultados da precisão, em termos de repetitividade (%RSD _r) do método e do instrumento e o percentual de recuperação (%R), referente a análise das amostras fortificadas com 3 diferentes níveis de concentrações.....	56
Tabela 20: Resultados de precisão em termos de precisão intermediária em relação ao percentual do coeficiente de variação (%CV) ou desvio padrão relativo (%RSD _{pi}), para a cafeína e os esteróides, obtido através de nove repetições.....	57
Tabela 21: Percentuais de recuperação (R%) e desvio padrão relativo (RSD%) para a cafeína e os esteróides (n=3).....	58
Tabela 22: Concentrações do Σ LABs (ng g ⁻¹ peso seco) em sedimentos de diversas regiões	71
Tabela 23: Concentração (ng g ⁻¹ peso seco) dos Σ LABs, índice I/E e o percentual de degradação (% Deg) em cada profundidade dos locais amostrados..	75
Tabela 24: Comparação da concentração (μg g ⁻¹ peso seco) de coprostanol dentre alguns estudos	93
Tabela 25: Razões utilizadas para avaliação de aporte antropogênico na região do CEP	94
Tabela 26: Concentração (μg g ⁻¹ peso seco) dos esteróis totais (OLs totais) e principais razões de esteróides em cada profundidade dos locais amostrados	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAS – *Chemical Abstracts Service*

CEP – Complexo Estuarino de Paranaguá

CG – Cromatografia Gasosa

CG-MS – Cromatografia em fase Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas

Comp. – Comprimento

COT – Carbono Orgânico Total

CV – Coeficiente de Variação

E – Isômero Externo

h – hora

I – Isômero Interno

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia

LAB – Alquilbenzeno Linear, do inglês *Linear Alkylbenzene*

LAS – Alquilbenzenosulfonato Linear, do inglês *Linear Alkylbenzene Sulfonate*

LD – Limite de Detecção

Log K_{ow} – logaritmo do coeficiente de partição octanol-água

LQ – Limite de Quantificação

min – minuto

m/z – razão massa-por-carga

PE – Ponto de Ebulição

PF – Ponto de Fusão

PR – Paraná

R – Recuperação

r^2 – Coeficiente de determinação

RSD – Desvio padrão relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

s – estimativa do desvio padrão absoluto

SIM – Monitoramento seletivo de íons, do inglês *Single Ion Monitoring*

t_R – tempo de retenção

v – Volume

ZMT - Zona de máxima turbidez

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Cromatogramas dos padrões individuais dos esteróides e da cafeína pelo modo sim

Anexo B – Cromatograma do padrão mix (esteróides e cafeína) no modo scan

Anexo C – Cromatograma do padrão mix lab (1-C₁₀, 1-C₁₁, 1-C₁₂, 1-C₁₃, 1-C₁₄ e 1-C₁₉) no modo scan

Anexo D – Cromatograma dos espectros de massa dos isômeros dos labs (1-C₁₀, 2-C₁₀, 3-C₁₀, 4-C₁₀, 5-C₁₀, 1-C₁₁, 2-C₁₁, 3-C₁₁, 4-C₁₁, 5-C₁₁, 6-C₁₁, 1-C₁₂, 2-C₁₂, 3-C₁₂, 4-C₁₂, 5-C₁₂, 6-C₁₂, 1-C₁₃, 2-C₁₃, 3-C₁₃, 4-C₁₃, 5-C₁₃, 6,7-C₁₃, 1-C₁₄, 1-C₁₉)

Anexo E – Cromatograma do padrão de cafeína no modo scan

Anexo F – Cromatogramas referente aos testemunhos #2 Félix (41-43 cm), #2 Félix (21-23 cm), #3 Gererês (1-3 cm) e #3 Gererês (69-71 cm), respectivamente, analisados para a fração 1 (LABs) no modo sim

Anexo G – Cromatogramas referente aos testemunhos #11 Benito (9-11 cm), #12 Guapicum (49-51 cm), #12 Guapicum (29-31 cm), #12 Guapicum (19-21 cm) e #12 Guapicum (9-11 cm), respectivamente, analisados para a fração 3 (esteróides e cafeína) no modo scan

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Esteróides	4
1.1.1. Esteróides como marcadores moleculares	9
1.2. Alquilbenzeno Linear (LAB)	12
1.3. Cafeína	15
2. OBJETIVOS	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Área de estudo	18
3.2. Amostragem do sedimento	20
3.3. Limpeza da vidraria	23
3.4. Reagentes e Solventes	24
3.5. Metodologia Analítica	24
3.5.1. Pré-processamento	24
3.5.2. Procedimento analítico para determinação dos marcadores moleculares	25
3.5.3. Derivatização	26
3.5.4. Controle Analítico	27
3.6. Determinações realizadas	29
3.6.1. Taxa de sedimentação e datação	29
3.6.2. Granulometria	30
3.6.3. Análise do Carbono Orgânico Total (%COT)	31
3.7. Validação e revalidação de metodologias utilizadas	33
3.7.1. Curva analítica e linearidade	33
3.7.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	34
3.7.3. Seletividade	35
3.7.4. Precisão	35
3.7.5. Exatidão (Recuperação)	36
3.8. Análise por Cromatografia em fase Gasosa com detecção de Espectrometria de Massas (CG-EM)	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1. Otimização e validação de metodologias utilizadas	41
4.1.1. Método dos Alquilbenzeno Lineares (LABs)	41
4.1.1.1. Linearidade e curva analítica	42
4.1.1.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	47
4.1.1.3. Seletividade	47
4.1.1.4. Precisão	48
4.1.1.5. Exatidão	50
4.1.2. Método dos Esteróides e Cafeína	50
4.1.2.1. Linearidade e curva analítica	51
4.1.2.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	54
4.1.2.3. Precisão	55
4.1.2.4. Exatidão	57
4.2. Taxa de sedimentação e datação	58
4.3. Granulometria	60
4.4. Carbono Orgânico Total (%COT)	63
4.5. Alquilbenzenos Lineares (LABs)	66
4.6. Esteróides	78

4.7. Cafeína	99
4.8. Histórico da urbanização do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e avaliação integrada dos parâmetros analisados	102
5. CONCLUSÃO.....	108
6. RECOMENDAÇÕES FUTURAS	109
7. PRODUÇÃO CIENTÍFICA REFERENTE AO ESTUDO	110
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
ANEXOS	118

1. INTRODUÇÃO

O ambiente aquático é o destino final da matéria orgânica, seja de origem natural, seja antrópica. A matéria orgânica de origem antrópica contribui com um importante grupo de contaminantes, que chegam ao ambiente através de muitas fontes e, dependendo de suas características, podem ficar acumulados nos sedimentos, fornecendo a integração temporal dos processos de contaminação atuantes ao longo do tempo (Kennish, 1992).

Uma das principais fontes de contaminação para o ambiente aquático é o esgoto, que introduz ao ambiente compostos de origem doméstica e industrial em proporções variáveis (Cordeiro *et al.*, 2008). Aportes domésticos são constituídos por matéria orgânica fecal e também por detergentes, os quais são carregados pelo esgoto, como os de cozinha, do banho e lavanderia, enquanto que o aporte industrial varia bastante, indo de resíduos de petróleo a processamento de alimentos (Jardé *et al.*, 2005).

Em geral, nas regiões litorâneas do Brasil, os esgotos domésticos recebem como tratamento somente uma simples remoção de sólidos grosseiros (tratamento primário), sendo, muitas vezes, lançados *in natura* no ambiente (Pratt *et al.*, 2008). Como consequência, a contaminação por esgotos domésticos representa um dos principais problemas à preservação e utilização dos recursos hídricos continentais e costeiros brasileiros (Carreira *et al.*, 2001). Estes aportes introduzem elevadas quantidades de matéria orgânica e microrganismos patogênicos, acarretando impactos à biota aquática (alterando a biodiversidade e o equilíbrio do ecossistema) e problemas à saúde pública (Pratt *et al.*, 2008; Jardé *et al.*, 2005).

Também há a introdução por córregos e emissários submarinos que são fatores condicionantes para a presença dos esgotos nas regiões litorâneas, como nas praias, estando isso relacionada com a influência turística (que aumenta o aporte dos esgotos e sobrecarregam fossas sépticas), a fisiografia da praia (que pode dificultar a dispersão dos esgotos), a ocorrência de chuvas (que carregam esgotos e vários tipos de detritos antes estagnados nos arredores de canais e drenagem) e condições de maré (que quando enchentes barram cursos d'água contaminados e quando vazantes causam drenagem das águas desses cursos para o mar) (Kawakami, 1999).

A detecção da contaminação por esgotos no meio ambiente e a detecção de suas fontes é de considerável importância para a saúde do meio ambiente (Kawakami, 1999), pois possibilita ações de manejo ambiental visando a mitigação do problema. Para este fim, diversos métodos que se baseiam na identificação de moléculas como traçadores específicos da contaminação têm sido utilizados. Esses métodos podem ser divididos em traçadores ativos e passivos. Como ativos, entende-se substâncias intencionalmente adicionadas ao esgoto, como por exemplo, substâncias radioativas e corantes, que uma vez introduzidas tem a sua distribuição monitorada no ambiente aquático. Por outro lado, os traçadores passivos são substâncias naturalmente encontradas no esgoto, tais como as bactérias do grupo coliforme, amônia e matéria orgânica biodegradável, entre outros (Carreira *et al.*, 2001).

Os traçadores passivos listados acima possuem a desvantagem de não permanecerem por longo tempo em ambientes marinhos, especialmente devido à ação das radiações solares e pela temperatura. Por este fato, quando há aporte de esgoto com a conseqüente presença de outros patógenos mais resistentes às mesmas condições ambientais, estes traçadores não serão capazes de detectar a contaminação, acarretando em um diagnóstico incorreto que pode possibilitar assim um risco potencial à saúde do ambiente (Kawakami, 1999).

Entre os traçadores passivos, encontram-se também moléculas orgânicas que apresentam uma boa resistência a transformações resultantes de processos ambientais e cujas estruturas podem ser relacionadas a origens específicas. Esses compostos são denominados de marcadores moleculares (Carreira *et al.*, 2001), e têm sido estudados e utilizados por geoquímicos orgânicos para entender as fontes, transporte e destino de compostos orgânicos. Esses marcadores moleculares são também conhecidos na geoquímica ambiental como biomarcadores (Takada & Eganhouse, 1998).

Em função de suas estruturas originais, os marcadores moleculares podem fornecer informação altamente específica e inacessível por outras aproximações. Os marcadores relevantes aos problemas ambientais classificam-se em três categorias: marcadores biogênicos contemporâneos, biomarcadores fósseis e marcadores moleculares antropogênicos (Takada & Eganhouse, 1998).

Segundo a definição descrita em Takada & Eganhouse (1998) marcadores biogênicos contemporâneos são usados para identificar fontes biogênicas de

matéria orgânica, já os biomarcadores fósseis são compostos encontrados em combustíveis fósseis, onde eles ocorrem como resíduos persistentes de matéria orgânica biogênica e seus produtos diagenéticos, enquanto que a última categoria, marcadores moleculares antropogênicos, são compostos orgânicos introduzidos ao ambiente através de atividades humanas.

De acordo com as categorias dos marcadores citados acima, no presente trabalho será dado enfoque a traçadores passivos, como os marcadores moleculares antropogênicos, destacando-se os esteróides fecais, alquilbenzenos lineares (LABs) e cafeína, e marcadores biogênicos como os esteróides de origem natural.

Marcadores moleculares do grupo dos esteróides fecais indicam contaminação por fezes de animais de sangue quente, em grande parte associada aos efluentes domésticos, porém, a maioria dos esteróides é encontrada naturalmente no ambiente (Martins, 2001; Grimalt *et al.*, 1990). Os LABs sugerem contaminação por material detergente (Jardé *et al.*, 2005; Takada *et al.*, 2004) e a cafeína é um indicador de fonte especificamente antropogênica, pois ela está presente em várias bebidas, alimentos e em alguns fármacos (Mitra & Rice, 2007; Peeler, 2004). A seleção destes compostos se baseou no fato de cada um ser representativo e característico de uma fonte distinta de matéria orgânica. Todos estes marcadores moleculares serão analisados e quantificados por Cromatografia em fase Gasosa equipado com detector por Espectrometria de Massas (CG-EM).

Por estes compostos apresentarem baixa solubilidade em água à temperatura ambiente, eles tendem a se associar ao material particulado e também aos sólidos presentes nos esgotos. Podem se acumular nos sedimentos, graças a estabilidade química e baixa degradação (Martins *et al.*, 2008). Os sedimentos podem funcionar como grandes reservatórios e, por este motivo, fonte dessas substâncias, que após atingi-los, ficam registrados em suas camadas sedimentares fornecendo o histórico da contaminação (Kawakami, 1999).

Assim, os marcadores moleculares serão analisados em perfis sedimentares do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), para avaliar o impacto antrópico do ambiente, visto que esta região está sofrendo crescente atividade antrópica (Lana *et al.*, 2001) pelo intenso uso humano associado, como a implantação de portos e terminais portuários, marinas, municípios costeiros, pólos industriais, variados tipos de aquicultura, potencial recreativo, entre outros aspectos (Lamour *et al.*, 2004).

1.1. Esteróides

A formação dos compostos esteroidais é resultado da oxidação enzimática do esqualeno ($C_{30}H_{50}$) (Figura 1), que é um hidrocarboneto poliinsaturado de cadeia aberta que freqüentemente ocorre em tecidos vegetais e animais. O resultado desta oxidação é a formação do 2,3-epóxido esqualeno e conseqüente ciclização. Animais e fungos ciclizam o composto 2,3-epóxido esqualeno para lanosterol como primeiro intermediário cíclico na biossíntese de esteróides, enquanto vegetais superiores, microalgas e muitos protozoários convertem o mesmo substrato para o cicloartenol. A reação de oxidação enzimática e a descarboxilação converte o lanosterol (C_{30}) em colesterol (C_{27}), precursor de todos os esteróides de origem animal, enquanto que o cicloartenol converte em esteróis originários de vegetais superiores, como por exemplo, o sitosterol, estigmasterol, campesterol (Bandeira *et al.*, 2008; Stefens, 2006).

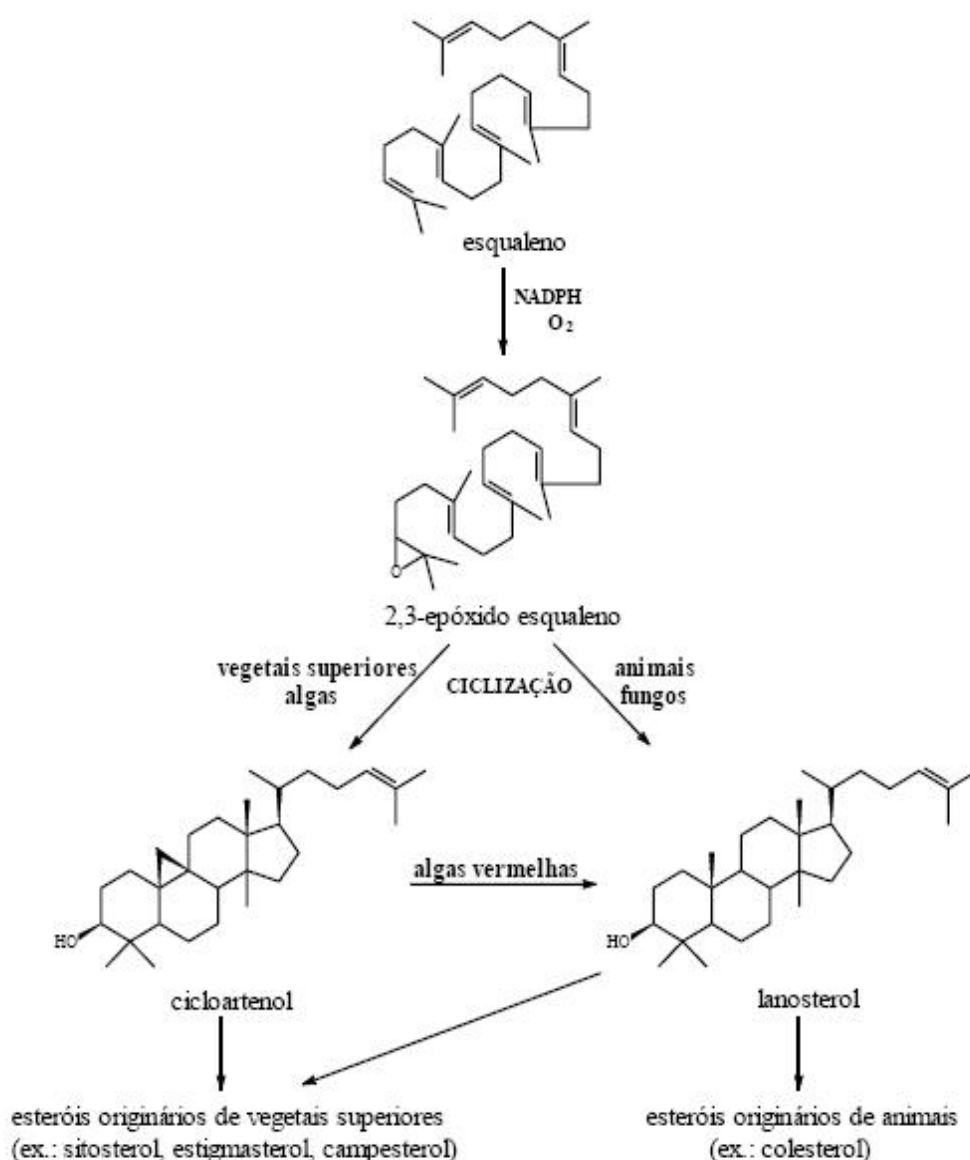


Figura 1 - Biossíntese dos esteróides a partir do precursor esqualeno (Stefens, 2006)

Os esteróides podem ser divididos em duas classes, os esteróis e as estanonas, que são compostos orgânicos amplamente distribuídos na natureza. Os esteróis são compostos químicos que pertencem ao grupo dos álcoois, quando na posição 3 está ligado um grupo hidroxila, já as estanonas ocorrem quando na posição 3 liga-se um grupo cetônico. Esses compostos possuem esqueleto carbônico básico constituído de 17 a 29 átomos de carbono e podem apresentar grupos metílicos tipicamente nos carbonos da posição 10 e 13 e cadeia carbônica no carbono 17 (Martins, 2001) (Figura 2).

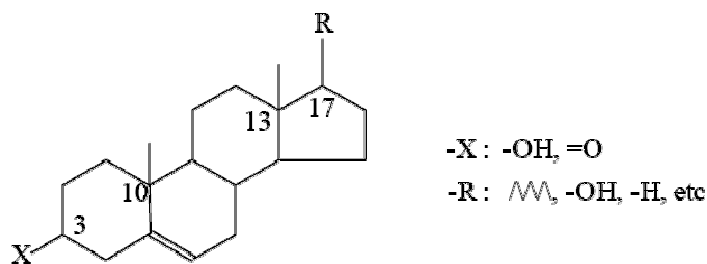


Figura 2- Estrutura básica dos esteróides (Martins, 2001)

A classificação desses compostos é feita mediante os principais grupos funcionais presentes em sua estrutura. Os esteróis apresentam o grupo hidroxila da função álcool, e, por sua vez, podem ser sub-divididos em estanóis (esteróis saturados, por exemplo: coprostanol), estenóis (esteróis mono-insaturados, por exemplo: colesterol), di-estenóis (esteróis com duas duplas ligações, por exemplo: estigmasterol). Similarmente, os esteróides que apresentam a função cetona são denominados estanonas e também podem conter insaturações (Gagosian *et al.*, 1979).

Os esteróides analisados no presente trabalho, bem como suas fontes e nomenclaturas, estão descritos a seguir de acordo com alguns autores (Martins *et al.*, 2007; Stefens, 2006; Lourenço, 2003; Grimalt *et al.*, 1990; Volkman, 1986):

- Coprostanol: também denominado de 5β -colestano- 3β -ol, é formado através da hidrogenação (redução) bacteriana do colesterol no intestino de animais superiores, podendo ser utilizado como traçador de esgotos urbanos.

- Coprostanona: também denominada de 5β -colestano-3-ona. Esta estanona (esteróide com grupo funcional cetona) tem origem predominante de fezes humanas, sendo um produto intermediário da conversão do colesterol para coprostanol, que ocorre preferencialmente no trato intestinal de animais superiores.

- Epicoprostanol: também denominado de 5β -colestano- 3α -ol, é um esteroide fecal epímero do coprostanol, não estando presente de forma significativa nas fezes humanas. Este composto pode ter sua origem associada a esgotos que receberam tratamento, pois pode surgir a partir de processos de digestão aeróbica de lodos de estações de tratamento de efluentes.

- Colestanona: também denominada de 5α -colestano-3-ona, é predominante em ambiente deposicional anóxico como uma consequência da redução microbiológica e/ou diagenética do colesterol.

- Colestanol: também denominado de 5α -colestano- 3β -ol. Sua principal fonte provém da redução química *in situ* do colesterol, porém podem ser originados de dinoflagelados e diatomáceas.

- Campesterol: também denominado de 24α -metil-5-colesten- 3β -ol. Sua fonte provém de plantas superiores, diatomáceas e clorofíceas. Pode estar presente em óleos vegetais (soja, milho, azeite) e frutos e sementes (avelã, amêndoas, semente de girassol).

- β -sitosterol: também denominado de 24-etilcolest-5-en- 3β -ol. A fonte deste esterol são as plantas terrestres superiores. Pode estar presente em óleos vegetais (soja, milho, azeite), frutos e sementes (avelã, amêndoas, semente de girassol).

- Colesterol: também denominado de 3β -hidroxi-5-colestano. Este composto é onipresente, abundante no fito e no zooplâncton. De origem não específica, podendo ser natural (aves, mamíferos, entre outros) ou antropogênica (como subproduto da excreção dos mamíferos superiores, como os humanos).

- Ergosterol: também denominado de 3β -hidroxi-5,7,22-ergostatrieno, 5,7,22-ergostatrien- 3β -ol e provitamin D₂. Este é o precursor da vitamina D e é proveniente de fungos decompositores.

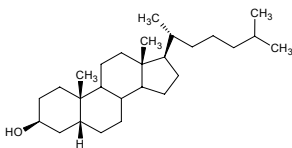
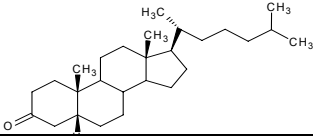
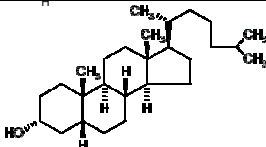
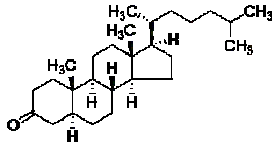
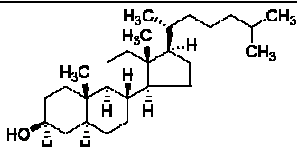
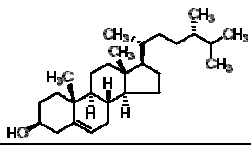
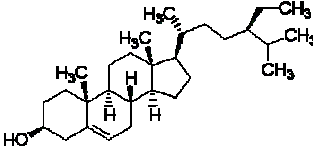
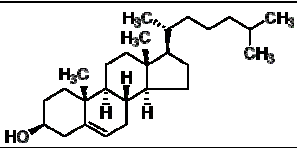
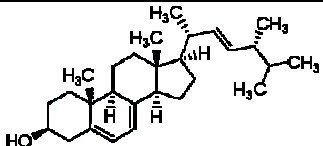
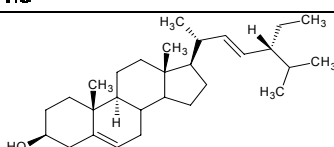
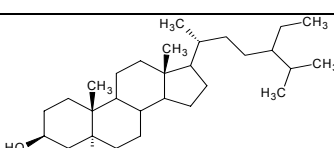
- Estigmasterol: também denominado de 24-etilcolest-5,22(*E*)-dien- 3β -ol, sendo proveniente de plantas terrestres superiores. Pode estar presente em óleos vegetais (soja, milho, azeite), frutos e sementes (avelã, amêndoas, semente de girassol).

- Estigmastanol: também denominado de estigmastan- 3β -ol. É originado de plantas superiores, porém está mais associado à redução do estigmasterol.

Na Tabela 1, estão algumas informações sobre os esteróides analisados no presente estudo, tais como seus nomes, fórmulas estrutural e molecular, CAS nº e ponto de fusão.

Já para o log K_{ow} (coeficiente de partição octanol-água) - valores >2 indicam que a substância é hidrofóbica e que tende, preferencialmente, a se adsorver ao material particulado e sedimento, foi encontrado o valor somente para o coprostanol, que está entre 6,5 a 7,5, o que significa dizer que este composto é hidrofóbico e adsorve-se ao material particulado e ao sedimento (Bayona & Albaiges, 2004).

Tabela 1: Nome, fórmulas estrutural e molecular, CAS nº e ponto de fusão dos esteróides quantificados neste estudo

Nome	Fórmula estrutural	CAS nº	Fórmula molecular	Ponto de fusão (°C)
Coprostanol		360-68-9	C ₂₇ H ₄₈ O	101
Coprostanona		601-53-6	C ₂₇ H ₄₆ O	61-62
Epicoprostanol		516-92-7	C ₂₇ H ₄₈ O	112-113
Colestanona		566-88-1	C ₂₇ H ₄₆ O	128-130
Colestanol		80-97-7	C ₂₇ H ₄₈ O	143-144,5
Campesterol		474-62-4	C ₂₈ H ₄₈ O	157-158
β-sitosterol		83-46-5	C ₂₉ H ₅₀ O	136-140
Colesterol		57-88-5	C ₂₇ H ₄₆ O	148-150
Ergosterol		57-87-4	C ₂₈ H ₄₄ O	160-163
Estigmasterol		83-48-7	C ₂₉ H ₄₈ O	165-167
Estigmastanol		19466-47-8	C ₂₉ H ₅₂ O	136-137

Fontes: www.steraloids.com; www.sigmaaldrich.com

1.1.1. Esteróides como marcadores moleculares de contaminação por esgotos

Os esteróides têm sido utilizados com sucesso como traçadores de matéria orgânica provenientes de várias espécies de plantas e animais, tanto de origem terrestre quanto marinha. De modo geral, a distribuição desses compostos em sedimentos lacustres é dominada por esteróis com 29 átomos de carbono, como o β -sitosterol (24-etil-colest-5-en-3 β -ol) e o estigmasterol (24-etil-colest-5,22(*E*)-dien-3 β -ol), principais esteróis de plantas terrestres. Em contraste, o plâncton marinho é caracterizado por esteróis C_{27} e C_{28} . As fezes do zooplâncton geralmente apresentam esteróis C_{28} , sendo que os crustáceos, que são a classe dominante, contêm esteróis C_{27} , particularmente o colesterol (colest-5-en-3 β -ol) (Volkman, 1986).

Por outro lado, o uso dos esteróides como indicadores de contaminação fecal é particularmente aplicável a regiões próximas a grandes centros populacionais e industriais onde é possível visualizar a presença de fontes de descarga de efluentes domésticos que muitas vezes recebe apenas tratamento primário (Martins, 2001).

O coprostanol (5 β -colest-3 β -ol, C_{27}) é um esterol amplamente utilizado, desde os anos 60, como marcador molecular para avaliar e monitorar a contaminação por efluentes domésticos em ambientes aquáticos (Volkman, 2005). Este composto está presente em fezes humanas por ser o produto predominante da redução microbiológica do colesterol no intestino de animais superiores (Kawakami, 1999). À temperatura ambiente, o coprostanol é um sólido branco cristalino, possui ponto de fusão de 101 °C, sendo hidrofóbico e solúvel em solventes orgânicos (Takada & Eganhouse, 1998).

As taxas de excreção humana variam de 82 a 1.272 mg de coprostanol por dia, com concentrações de coprostanol nas fezes humanas variando de 4,1 a 21,3 mg g⁻¹ (Takada & Eganhouse, 1998). Entretanto, o coprostanol também pode ter outras fontes além das excretas humanas, o que faz com que possa ser encontrado em regiões onde não haja intervenção antropogênica. São propostas duas possíveis fontes de coprostanol onde há ausência de intervenção antropogênica: redução do colesterol *in situ* e fezes de mamíferos marinhos e terrestres (Takada & Eganhouse, 1998; Grimalt *et al.*, 1990). Pelas razões citadas acima é preciso ter cautela nas interpretações dos dados.

A redução do colesterol resulta nos isômeros 5β - (coprostanol) e 5α - (colestanol) (Figura 3). Embora o isômero 5α seja termodinamicamente mais estável, as proporções dos isômeros 5α e 5β variam dependendo da comunidade microbiana responsável pela redução dos estenóis (Takada & Eganhouse, 1998; Grimalt *et al.*, 1990).

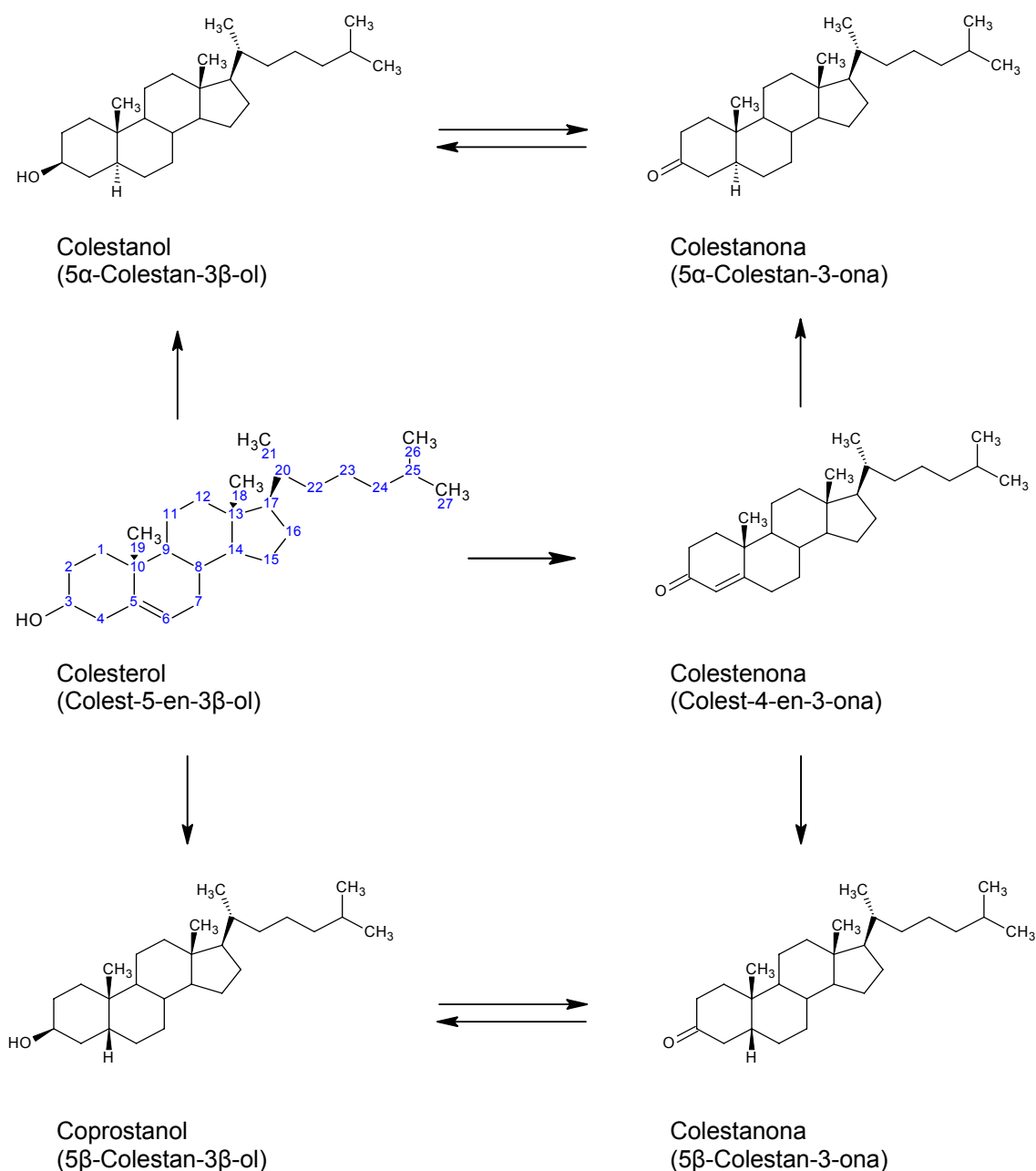


Figura 3 – Etapas de transformação do colesterol (adaptado de Takada & Eganhouse, 1998)

Uma vez no ambiente marinho, o coprostanol sofre um declínio em sua concentração decorrente dos efeitos de diluição e degradação aeróbica. Porém a composição dos esteróides na forma particulada varia pouco durante a decomposição, comportamento considerado essencial para uso desses como traçadores de matéria orgânica de origem antropogênica (Kawakami, 1999).

Por apresentar baixa solubilidade em água, os esteróides tendem a se associar ao material particulado e pela sua resistência à degradação anaeróbica, acabam acumulando nos sedimentos, o que facilita a sua determinação (Braun, 2006; Lourenço, 2003). O uso de relações numéricas envolvendo coprostanol e epicoprostanol entre si ou com outros esteróis e a estanona (coprostanona) viabiliza o estudo da presença de esgoto no ambiente, pois as faixas de valores tendem a distinguir as fontes de esteróis (Martins, 2001).

Para melhorar avaliação da contaminação pelos esteróides, algumas razões foram propostas. Grimalt (1990) propôs a utilização das razões $\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)\text{colestano-3}\beta\text{-ol}}$ (estanol) e $\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)\text{colestano-3-ona}}$ (estanona), ou seja, [coprostanol/(coprostanol+colestano-3 β -ol)] e [coprostanona/(coprostanona+colestano-3-ona)], respectivamente. Razões superiores a 0,7 (indicando predominância de isômeros 5 β) podem ser atribuídas a áreas contaminadas por efluentes urbanos, enquanto razões inferiores a 0,3 caracterizam amostras não contaminadas. A razão citada acima para estanóis (função orgânica álcool) são suscetíveis de alteração através do aporte direto de 5 α -estanóis de diversos organismos aeróbicos, incluindo espécies de fitoplâncton, zooplâncton e macrófitas. Desta forma, registros sedimentares dominados por produção de fitoesterol tornam difícil a confirmação por contaminação fecal (sobretudo em regiões de alta produtividade de algas). Em contrapartida, as razões de estanonas (função orgânica cetona) são menos influenciadas por aportes de algas, oferecendo um parâmetro suplementar para a identificação de contaminação por esgoto. A composição das estanonas do ambiente aquático e sedimentos contaminados por matéria fecal é, essencialmente, compreendida por cadeias de 27 e 29 átomos de carbono, e maiores concentrações destas estanonas geralmente correspondem a um grau mais elevado de contaminação por esgoto.

A razão coprostanol/colesterol proposta por Takada *et al.* (1994) é utilizada para identificar a origem dos esteróides e inferir também se há contaminação antropogênica no local estudado, sendo freqüentemente usada como indicação de

contaminação por esgoto. Valores maiores que 1,0 são geralmente encontrados em locais próximos a descargas de esgotos (fonte antropogênica), enquanto valores menores que 1,0 sugerem que a contribuição de fontes biogênicas é predominante, e, portanto, não há contaminação.

Uma outra razão, esta sugerida por Venkatesan & Kaplan (1990) , é a relação entre %(coprostanol + epicoprostanol)/OLs totais (Esteróis totais) para qual valores maiores de 50% sugerem ambiente severamente contaminado.

No decorrer do presente trabalho serão enfocadas as razões mais significativas para cada local amostrado, para que seja possível a visualização das principais fontes dos esteróides.

1.2. Alquilbenzeno Linear (LAB)

A fórmula molecular de um alquilbenzeno linear (LAB) pode ser expressa como $n-C_m$, onde 'm' indica o número de átomos de carbono alquilado e 'n' indica a posição na cadeia alquil onde o grupo fenil está ligado (Macías-Zamora & Ramírez-Alvarez, 2004; Takada & Eganhouse, 1998). Como exemplo disso, a fórmula estrutural do 6- C_{12} -LAB (LAB com 12 átomos de carbono na cadeia alquílica e com o grupo fenil ligado no carbono de posição 6) está representada na Figura 4.

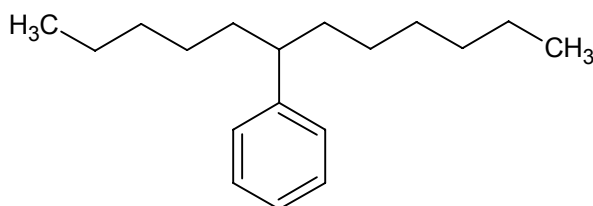


Figura 4 – Estrutura do alquilbenzeno linear 6- C_{12} -LAB

Os LABs (C_{10} a C_{14}) têm massa molecular que varia entre 218 a 274 g mol⁻¹, são líquidos sem coloração, viscosos e pouco solúveis em água (hidrofóbicos) à temperatura ambiente (Takada & Eganhouse, 1998). São obtidos pela reação de alquilação de Friedel-Crafts a partir do benzeno com olefinas lineares ou haletos de

alquilas, utilizando catalisadores tais como HF, AlCl_3 , mistura de zeólitas ou óxidos metálicos (Zeng *et al.*, 1997).

O LAB é a matéria-prima utilizada na produção de surfactantes. Ele é subsequentelemente sulfonado (usando agentes sulfonantes, tais como SO_3 gasoso) para produção industrial do alquilbenzenosulfonato linear (LAS), o surfactante aniônico mais usado mundialmente (Takada *et al.*, 2004). Devido à sulfonação incompleta, o LAS contém entre 1 a 3% de LAB, este último podendo entrar no ambiente aquático através da descarga de esgoto doméstico (Penteado, 2005). O resíduo de alquilbenzeno em detergentes sintéticos é considerado a principal fonte antropogênica de LABs no ambiente aquático (Takada & Eganhouse, 1998).

Por serem mais resistentes ao ataque microbiano no ambiente que os LASs, os LABs têm sido utilizados como marcadores moleculares de aporte de esgoto doméstico (Jardé *et al.*, 2005; Takada *et al.*, 2004).

No Brasil, existe um consumo expressivo de detergentes, porém a falta de tratamento de esgoto doméstico nas regiões urbanas tem causado efeitos ambientais indesejáveis, como formação de espumas nas águas dos rios (Penteado, 2005). Além da questão estética, as espumas formadas acarretam em problemas ambientais graves, como a dispersão de contaminantes pelo vento, espalhando produtos tóxicos a grandes distâncias (Carvalho *et al.*, 2006).

Os LABs (dentre os quais C_{10} , C_{11} , C_{12} , C_{13} e C_{14}) compreendem uma mistura de isômeros que é determinado pela localização do grupamento fenílico à cadeia alquílica, ou seja, substituídos nas posições 2, 3, 4, 5 ou 6 desta cadeia (Hartmann *et al.*, 2000).

Isômeros cujo anel benzênico é ligado nas proximidades do final da cadeia alquílica, nas posições 2, 3 e 4 são comumente ditos como isômeros externos (E). Por outro lado, isômeros cujo anel benzênico é ligado no meio da cadeia alquílica, nas posições 5 e 6 são ditos isômeros internos (I) (Bayona & Albaiges, 2004; Hartmann *et al.*, 2000; Takada & Eganhouse, 1998).

A distribuição dos isômeros dos LABs fornece informação relacionada ao seu grau de degradação (Macías-Zamora & Ramírez-Alvarez, 2004), mas também pode ser aplicada para obter informações do tipo de esgoto lançado no ambiente aquático. Como os isômeros internos possuem constante de biodegradação inferior aos isômeros externos, o cálculo da razão I/E (Equação 1), dá uma estimativa da extensão da degradação comparativa dos isômeros (Bayona & Albaiges, 2004) ou

uma relação de predomínio entre lançamento de esgotos tratados e não tratados (Luo *et al.*, 2008). O predomínio dos isômeros externos (baixas razões I/E) sugere o lançamento preferencial de esgoto doméstico não tratado no local. Em áreas próximas a grandes centros, os valores encontrados para a razão I/E foram <1, enquanto em áreas mais afastadas esses valores foram >1 (Penteado, 2005).

$$\frac{I}{E} = \frac{(6 - C_{12}LAB + 5 - C_{12}LAB)}{(4 - C_{12}LAB + 3 - C_{12}LAB + 2 - C_{12}LAB)}$$

Equação 1 – Fórmula para o cálculo da razão entre isômeros do C₁₂-LAB

Em Takada & Eganhouse (1998), aparece o cálculo do percentual da degradação dos LABs (Equação 2), que visa mostrar a degradação destes compostos orgânicos para um dado ambiente.

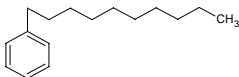
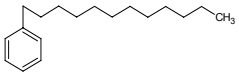
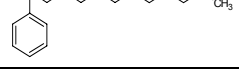
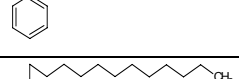
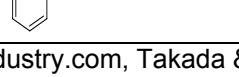
$$\% = 81 \times \log\left(\frac{I}{E}\right) + 15$$

Equação 2- Percentual de degradação dos LABs

A razão I/E correlaciona-se exponencialmente bem com o percentual de degradação dos LABs, ou seja, à medida que aumenta a razão I/E, aumenta também o percentual de degradação dos LABs (Takada & Eganhouse, 1998).

Na Tabela 2 estão algumas informações sobre os alquilbenzenos lineares analisados no presente estudo, tais como suas fórmulas estrutural e molecular, CAS nº, pontos de ebulição e de fusão e log K_{ow} (coeficiente de partição octanol-água - valores >2 indicam que a substância é hidrofóbica e que os compostos tende, preferencialmente, a se adsorver ao material particulado e sedimento).

Tabela 2: Fórmulas estrutural e molecular, CAS nº, pontos de fusão e de ebulição e log K_{ow} (logaritmo do coeficiente de partição octanol-água) dos alquilbenzenos analisados no presente trabalho

Nome	Fórmula estrutural	CAS nº	Fórmula molecular	PE (°C)	PF (°C)	log ^{b,c} K_{ow}
Decilbenzeno (1-C ₁₀ -LAB)		104-72-3	C ₁₆ H ₂₆	293	-14	~7
Undecilbenzeno (1-C ₁₁ -LAB)		6742-54-7	C ₁₇ H ₂₈	316	-5	~7
Dodecilbenzeno (1-C ₁₂ -LAB)		123-01-3	C ₁₈ H ₃₀	331	3	~8
Tridecilbenzeno (1-C ₁₃ -LAB)		123-02-4	C ₁₉ H ₃₂	-	10	~8
Tetradecilbenzeno (1-C ₁₄ -LAB)		1459-10-5	C ₂₀ H ₃₄	359	46	~9

Fontes: www.chemindustry.com, Takada & Eganhouse (1998)^b, Gustafsson *et al.* (2001)^c

1.3. Cafeína

A cafeína (CAS nº 58-08-2) (Figura 5) possui fórmula molecular C₈H₁₀N₄O₂, é um composto orgânico com polaridade intermediária, heterocíclico, classificado como alcalóide do grupo das xantinas, e designado quimicamente como 1,3,7-trimetilxantina. Possui peso molecular de 194,19 g mol⁻¹ com pontos de fusão e ebulição de 238 °C e 178 °C, respectivamente (Peeler, 2004). O log K_{ow} é igual a 0,01 e a solubilidade em água de 13,5 g L⁻¹ (Choi *et al.*, 2008; Ferreira, 2005; Gardinali & Zhao, 2002).

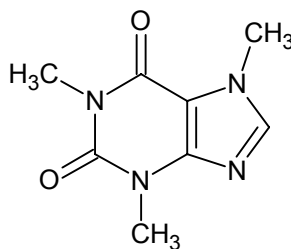


Figura 5 – Fórmula estrutural da cafeína

Devido a alta solubilidade em água e baixo $\log K_{ow}$, este composto particiona preferencialmente na coluna d'água, como mostram estudos feitos por Gardinali & Zhao (2002) e Ferreira (2005). Porém, este composto também pode ser encontrado no sedimento (Mitra & Rice, 2007).

A cafeína é um ingrediente que está presente em uma variedade de bebidas, tais como café, chás e bebidas não alcoólicas cafeinadas, assim como em alimentos como chocolate, tortas e sobremesas, medicamentos, tabaco e condimentos (Ferreira, 2005).

Ela é produzida naturalmente, sendo encontrada em um pouco mais de 60 espécies de plantas, ou sinteticamente a partir da metilação da teobromina ($C_7H_8N_4O_2$) (Peeler, 2004).

Como o corpo humano elimina este composto de forma eficiente, acaba chegando aos esgotos, e dessa forma, a cafeína pode ser utilizada como um indicador de aporte antropogênico para sistemas aquáticos (Siegener & Chen, 2002). Ela foi selecionada para ser trabalhada no presente estudo por ser um marcador molecular de natureza antrópica, de origem distintiva devido ao consumo elevado pelos seres humanos (Ferreira, 2005).

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar o histórico dos aportes de matéria orgânica de origem antrópica e natural através de marcadores moleculares em colunas sedimentares da região do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) no Paraná (PR) por CG-EM.

Objetivos Específicos

- Otimizar e validar métodos utilizando Cromatografia em fase Gasosa com detector de Espectrometria de Massas (CG-EM).
- Identificar e quantificar os principais esteróides fecais e naturais, alquilbenzenos lineares (LABs) e cafeína em colunas sedimentares do Complexo Estuarino de Paranaguá.
- Caracterizar possíveis variações nos aportes naturais e antrópicos, e inferir sobre as causas ao longo dos últimos anos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) (Figura 6) é um ecossistema estuarino que comporta um dos maiores portos do Brasil, o porto de Paranaguá, na cidade de Paranaguá. Situa-se no sudeste do Brasil (48°25'W, 25°30'S), ao norte do litoral do estado do Paraná (PR) e é limitado ao norte e oeste pelas cadeias montanhosas da Serra do Mar, ao sul pelos terrenos quaternários da planície costeira paranaense e ao leste pelo oceano Atlântico (Lana *et al.*, 2001; Netto & Lana, 1997).

O CEP é compreendido por dois principais corpos d'água, as baías de Paranaguá e Antonina (260 Km²) no eixo leste-oeste e as baías de Pinheiros e Laranjeiras (200 Km²) no eixo norte-sul. Outros segmentos menores interligam-se a esses dois corpos aquosos de maior porte, como as baías de Guaraqueçaba, Antonina, Pinheiros, Itaqui, Benito e rio Medeiros (Lamour *et al.*, 2004).

Sua conexão com o oceano Atlântico se dá através de três canais: o canal da Galheta, delimitado pela face sul da Ilha do Mel e o continente, o canal Barra Norte, situado entre a Ilha do Mel e a Ilha das Peças e, mais ao norte, o canal do Superagui, entre a Ilha das Peças e a Ilha do Superagui (Brandini, 2000). O canal da Galheta é a mais importante ligação do estuário com a plataforma continental, sendo constantemente dragada e considerada a principal via de acesso de embarcações com destino ao porto de Paranguá (Mantovanelli *et al.*, 2004).

A cidade de Paranaguá é a mais importante da região, com aproximadamente 133.000 habitantes (IBGE, 2007). O sistema de esgoto é deficiente, sendo grande parte lançada no rio Itiberê e Emboguaçu, ou diretamente na baía de Paranaguá (Kolm *et al.*, 2002). Ao longo de todo complexo estuarino, bancos de areia e pequenas ilhas podem ser encontrados. Toda margem do estuário e enseadas de maré são recobertos por manguezais e marismas (Mantovanelli *et al.*, 2004).

O clima regional é subtropical úmido com verões quentes e chuvosos e invernos leves, onde a temperatura chega a 16 °C no inverno e a 34 °C no verão (Netto & Lana, 1997). A média da umidade relativa do ar é de 85%. As marés

observadas na baía de Paranaguá e Antonina são semi-diurnas, apresentando desigualdades com influência adicional causada por efeitos de fenômenos meteorológicos que ocorrem na área e efeitos da conformação física da baía de Paranaguá. A região está sob a influência de ventos provenientes dos quadrantes leste e sudeste, com velocidade média de $4,0 \text{ m s}^{-1}$ (Lana *et al.*, 2001).

Estudos realizados por Noernberg (2001) detectaram a presença de uma zona de máxima turbidez (ZMT) no eixo leste-oeste, ocorrendo entre as ilhas Gererês e o porto de Paranaguá, relacionando a ocorrência desta zona com a geometria do corpo estuarino, intensidade das correntes de maré e estratificação da coluna d'água. Esta área é caracterizada pela concentração elevada de partículas em suspensão e isso acontece porque as condições físicas e físico-químicas associadas favorecem o processo de floculação, quando a descarga fluvial encontra a intrusão da cunha salina, aumentando o processo de deposição das partículas (Sá, 2003).

A distribuição da matéria orgânica dos sedimentos superficiais no Complexo Estuarino de Paranaguá está condicionada à circulação local, sendo que as áreas mais profundas (canais) apresentam, em geral, baixas concentrações de matéria orgânica. Nos setores mais internos, a matéria orgânica acompanha a distribuição dos sedimentos finos, predominando argila, ou seja, a concentração da matéria orgânica é mais elevada quanto maior o teor de argila (Noernberg, 2001).

O Complexo Estuarino de Paranaguá possui grande produtividade e biodiversidade, sendo considerado um dos sistemas costeiros menos impactados em função da ocupação preferencial da região da Serra do Mar. A importância ecológica do CEP é determinada pela sua variedade de ambientes, incluindo ilhas, costões rochosos, marismas e manguezais. Entretanto, durante as três últimas décadas este ecossistema vem sofrendo crescente atividade antrópica (lançamento de esgotos urbanos e industriais, atividades portuárias, etc), acarretando no aumento dos níveis de contaminação (Lana *et al.*, 2001).

Além de sua relevância ecológica, o estuário da baía de Paranaguá destaca-se ainda por possuir um papel fundamental no desenvolvimento econômico e social do estado do Paraná, tendo como fator agregado os impactos das atividades antrópicas. Atividades industrial, portuária, pesqueira, urbana e turística são desenvolvidas na região, sendo que os portos de Paranaguá (primeiro em exportação de grãos da América Latina) e Antonina ocasionam um intenso tráfego

de navios de grande porte. O porto de Paranaguá movimenta um volume de cargas de aproximadamente 33 milhões de toneladas anualmente através de navios de todo o mundo (APPA, 2008).

Dragagens periódicas no interior do complexo estuarino são efetuadas para a manutenção da profundidade exigida para os canais de navegação. Um dos maiores problemas ambientais do porto de Paranaguá é a escolha de um sítio de despejo adequado para o material dragado dos berços de atracação (Lana *et al.*, 2001).

3.2. Amostragem do sedimento

Para uma melhor caracterização do perfil sedimentar das principais áreas que integram o CEP, foram coletados durante este estudo 12 testemunhos, sendo 9 destes nas principais áreas de influência antrópica no eixo leste-oeste (#T1 Ponta da Graciosa - Antonina, #T2 Félix, #T3 Gererês, #T4 Bóia 2, #T5 Anhaia, #T6 Itiberê, #T7 Cotinga, #T8 Papagaio e #T9 Ilha do Mel) e 3 localizados no eixo norte-sul sob menor influência antrópica (#T10 Itaqui, #T11 Benito e #T12 Guapicum), com pouca atuação antrópica e grande densidade de manguezais (Figura 6 e Tabela 3).

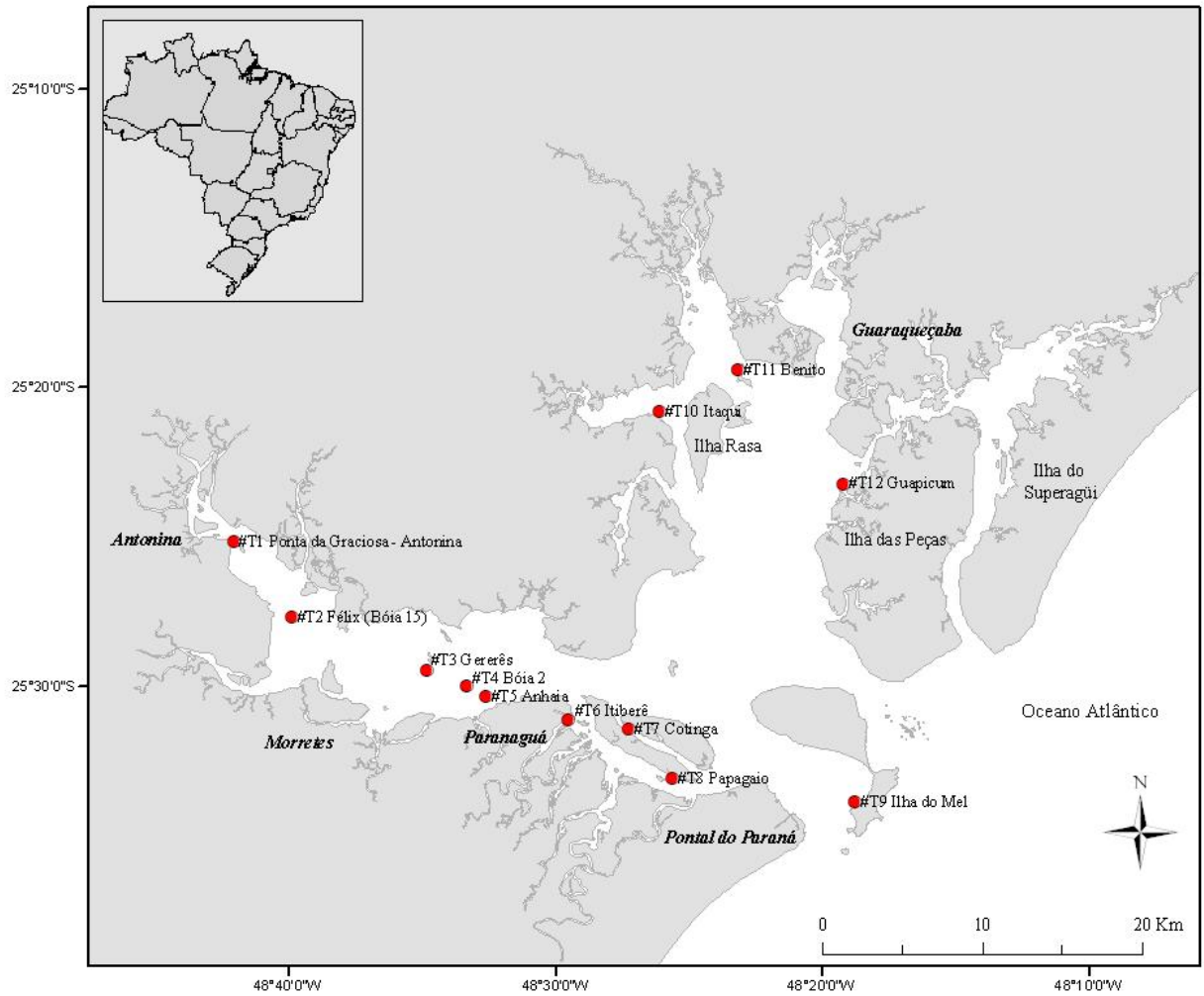


Figura 6 – Área de estudo e pontos de amostragens no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP)

Tabela 3: Dados referentes aos testemunhos coletados em maio de 2006

Ponto	Latitude	Longitude	Comp. (cm) do testemunho	Dados da coleta
#T1 = Ponta da Graciosa - Antonina	25°25'07"S	48°42'24"W	89	Primeiros 25 cm só continham areia. Local próximo a jusante do porto de Antonina
#T2 = Félix	25°27'35"S	48°40'07"W	129	Canal de acesso ao porto de Antonina
#T3 = Gererês	25°27'28"S	48°32'45"W	178	Zona de máxima turbidez. Local próximo ao canal de acesso aos portos de Antonina e Paranaguá
#T4 = Bóia 2	25°29'48"S	48°33'32"W	195	Zona de máxima turbidez. Canal de acesso aos portos de Antonina e Paranaguá
#T5 = Anhaia	25°30'08"S	48°32'48"W	136	Zona de máxima turbidez. Coletado afastado da desembocadura do esgoto
#T6 = Itiberê	25°31'32"S	48°28'54"W	84	Local de descarga do emissário de esgoto da cidade de Paranaguá
#T7 = Cotinga	25°31'04"S	48°27'21"W	72	Local próximo ao centro da cidade de Paranaguá
#T8 = Papagaio	25°32'41"S	48°25'49"W	51	Local a montante do centro da cidade de Paranaguá
#T9 = Ilha do Mel	25°33'27"S	48°18'56"W	59	Local com presença de atracadouro de embarcações de lazer
#T10 = Itaqui	25°34'25"S	48°20'54"W	119	Local afastado dos centros urbanos
#T11 = Benito	25°19'01"S	48°23'37"W	174	Local afastado dos centros urbanos
#T12 = Guapicum	25°22'46"S	48°19'37"W	109	Local afastado dos centros urbanos

As amostras de sedimento foram coletadas entre os dias 1º e 3 de maio de 2006, com o apoio do Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná (CEM/UFPR), utilizando-se um testemunhador de aço inoxidável com diâmetro de 100 mm, e capacidade de coleta de um perfil de até 1 metro de profundidade (Figura 7).

Os 12 testemunhos sedimentares foram seccionados ao meio e camadas de 2 cm de espessura foram coletadas a fim de obter amostras intercaladas para análise de granulometria, carbono orgânico, datação e marcadores moleculares (LABs, esteróides e cafeína), perfazendo um total de 121 amostras (Figura 8). Os sedimentos foram acondicionados em recipientes de alumínio previamente

calcinados em mufla a 400 °C por 6 h e conservados em freezer (-15 °C) até o momento da análise.



Figura 7 - Testemunhador utilizado na coleta dos testemunhos



Figura 8 - Testemunhos sendo seccionados ao meio e sendo fatiados em camadas de 2 cm de espessura

3.3. Limpeza da vidraria

A vidraria utilizada foi previamente lavada com a finalidade de remover todos os compostos orgânicos indesejáveis, sendo inicialmente lavada com detergente aniônico alcalino (5% v/v) Detertec[®] (Vetec) e deixada em imersão por 24 h nesta

solução. Posteriormente foi enxaguada abundantemente em água corrente e novamente imersa por 24 h em solução 5% v/v de ácido nítrico, lavada em água corrente e seca em estufa com circulação forçada de ar. Imediatamente antes do uso a vidraria foi rinsada três vezes com acetona P.A (J.T. Baker[®]) seguido de três rinsadas com *n*-hexano (grau resíduo J.T. Baker[®]).

3.4. Reagentes e Solventes

Para análise de traços de contaminantes (ng g^{-1} e $\mu\text{g kg}^{-1}$), os reagentes devem possuir alto grau de pureza, de modo que não interfiram nas análises. Dessa forma, todos os reagentes utilizados são grau análise de resíduo/bi-destilados ou calcinados no laboratório.

Os solventes orgânicos utilizados (*n*-hexano e diclorometano, J.T. Baker[®]) apesar de serem grau análise de resíduo, tiveram o lote previamente testado para contaminação por hidrocarbonetos. Os adsorventes, sílica gel (70-230 Mesh, J.T. Baker[®]) e alumina (Al_2O_3) (70-230 Mesh, J.T. Baker[®]), e o dissecante sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) (J.T. Baker[®]) foram previamente calcinados em forno mufla durante 6 h a 450 °C. A ativação dos adsorventes foi feita a 160 °C por 4 h, sendo posteriormente desativados com 5% com água ultrapura e extraída com *n*-hexano (para a retirada de possíveis compostos orgânicos), conforme metodologia modificada da USEPA 3640.

O cobre metálico (utilizado para a remoção de enxofre da amostra) foi ativado por lavagem com ácido clorídrico (HCl) 10% v/v por 20 min, posteriormente enxaguado constantemente com água e finalmente lavado com acetona (P.A.) e, em seguida, com *n*-hexano (grau análise).

3.5. Metodologia Analítica

3.5.1. Pré-processamento

Os sedimentos foram secos em estufa a 40 °C até não conter mais traços de umidade, sendo posteriormente desagregados com gral e pistilo de porcelana, homogenizados e armazenados até o momento da análise.

3.5.2. Procedimento analítico para determinação dos marcadores moleculares

O sedimento seco (massa exata em torno de 15 g) recebeu 100 µL de uma mistura de padrões de recuperação [nonadecilbenzeno (C₁₉-LAB) e androstanol], sendo posteriormente extraído em aparato Soxhlet durante 12 h com *n*-hexano e diclorometano (1:1), seguindo metodologia da USEPA 3540C (USEPA, 1996). Para cada 12 amostras de sedimento extraídas, 1 era composto pelo branco, onde foi utilizado sulfato de sódio (NaSO₄) ao invés de sedimento, dessa forma foi avaliada a recuperação do procedimento. Os extratos foram concentrados em evaporador rotatório, sendo tratados com cobre ativado para a retirada do enxofre presente na amostra e concentrados a 1 mL em evaporador rotatório e em fluxo de nitrogênio. Os extratos foram purificados e fracionados em três frações (F1, F2 e F3) por cromatografia de adsorção em coluna de alumina(topo)/sílica, sendo utilizado respectivamente 8 e 6g.

A F1 (primeira fração) foi eluída com 25 mL de *n*-hexano (para análise dos LABs), a F2 (segunda fração) com 30 mL de uma proporção *n*-hexano/diclorometano (3:1) e 25 mL de *n*-hexano/diclorometano (1:1) (para análise de HPAs), enquanto que a F3 (terceira fração) foi retirada com 50 mL de diclorometano/metanol (3:1) (para análise dos esteróides e cafeína).

A determinação foi feita por cromatografia em fase gasosa com detector de espectrometria de massas (CG-EM). A identificação e quantificação dos compostos foram baseadas no espectro de massa individual e nos tempos de retenção comparados com a literatura, bibliotecas e padrões externos e internos.

A análise de esteróides foi realizada através de adaptação da metodologia descrita em Niencheski & Fillmann (2006), enquanto que da cafeína foi adaptada de Mitra & Rice (2007) e os LABs conforme metodologia descrita em Takada *et al.*

(2004), sendo todas otimizadas e validadas no Laboratório de Microcontaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia aquática da FURG (CONECO).

3.5.3. Derivatização

Devido à baixa volatilidade e alta polaridade, a análise de esteróis por cromatografia de fase gasosa (CG) apresenta uma baixa eficiência. Uma forma de se aumentar a volatilidade dos esteróis, reduzir a polaridade e melhorar a resolução cromatográfica é o processo de derivatização. Neste processo os esteróis são convertidos a éteres trimetil-silícicos através da substituição do hidrogênio da hidroxila (-OH) da posição 3 dos esteróis pelo grupo trimetil-silícico (-Si(CH₃)₃) do reagente derivatizante N,O-bis(trimetil-silil-trifluor-acetamida/trimetil-cloro-silane) (BSTFA/TMCS – 99:1, >99% de pureza, grau cromatográfico Aldrich®), possibilitando a resolução dos esteróis por cromatografia de fase gasosa (Figura 9). A substituição do hidrogênio ativo por um grupo silil reduz a polaridade do composto e diminui a força da ligação do hidrogênio (presente nos esteróis) existente com a coluna cromatográfica que é formada por sílica. O grupo trimetilsilil é o mais popular e versátil grupo silil utilizado para análises em cromatografia de fase gasosa. O uso do catalisador (TMCS) aumenta a reatividade do reagente silil. As estanonas e a cafeína também são submetidas a este processo, mesmo não sendo necessário, pois ambas são retiradas na mesma fração dos esteróis (F3), porém não sofrem nenhuma modificação que afete a sua detecção.

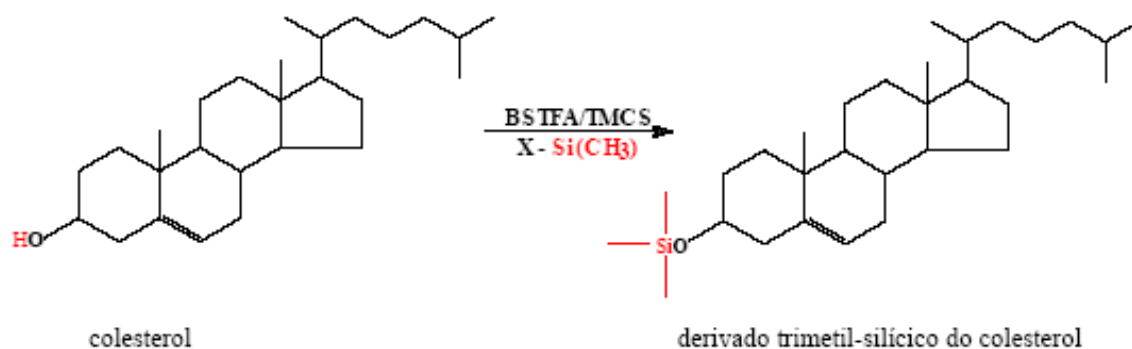


Figura 9 - Reação de derivatização dos esteróis (Martins, 2001)

A derivatização é feita levando a solução que contém os esteróides à secar, sob o fluxo de nitrogênio (N_2), posteriormente adicionando 40 μ L do agente derivatizante BSTFA:TMCS (99:1) à esta solução e aquecendo-a a 65 $^{\circ}$ C em banho-maria durante 1,5 h. A solução é novamente seca em fluxo de N_2 e os compostos recuperados com 1 mL de *n*-hexano.

3.5.4. Controle Analítico

O padrão interno (PI) é um composto adicionado à amostra que contém os analitos cujas massas pretendem-se determinar, antes que ela seja injetada, de forma que não interfira na análise. Para tal, ele nunca deve ser encontrado na amostra ambiental, estar disponível em elevado grau de pureza, ser adicionado à amostra em concentrações similares ao composto a ser analisado e ser bem resolvido dos outros picos. Este procedimento é extremamente útil, pois corrige variações de volume da injeção que poderia ocorrer (Lanças, 2004). Para o presente trabalho o padrão interno utilizado foi o 5 α -colestano (esteróides e cafeína) (Tabela 4).

O padrão externo (PE) é um composto certificado que é utilizado para a quantificação dos analitos em questão. Esse método compara a área da substância a ser quantificada na amostra com as áreas obtidas desta mesma substância em soluções padrão de concentrações conhecidas (Lanças, 2004). Os PEs utilizados no presente trabalho foram: cafeína, decilbenzeno (1-C₁₀-LAB), undecilbenzeno (1-C₁₁-LAB), dodecilbenzeno (1-C₁₂-LAB), tridecilbenzeno (1-C₁₃-LAB) e tetradecilbenzeno (1-C₁₄-LAB) para os LABs e coprostanol, epicoprostanol, colestanona, campesterol,

β -sitosterol, colestanol, colesterol, ergosterol, estigmasterol, estigmastanol e coprostanona para os esteróides (Tabela 4).

Os fatores de resposta, juntamente com os tempos de retenção obtidos para cada um dos padrões externos, são agrupados gerando uma curva de calibração que é utilizada posteriormente na quantificação das amostras, determinando a concentração do analito (Lanças, 2004).

O padrão de recuperação é um composto adicionado logo no início do processo, em uma concentração conhecida, antes da extração, e é quantificado no final de todo procedimento para verificar quanto do analito adicionado foi determinado no método, ou seja, para verificar a recuperação do processo (Lanças, 2004). Os padrões de recuperação utilizados para o presente trabalho foram nonadecilbenzeno (1-C₁₉-LAB) para os LABs e androstanol para os esteróides e para cafeína (Tabela 4).

Os critérios de controle de qualidade analítica para as metodologias padrão utilizada no laboratório CONECO, contidas em Niencheski & Fillmann (2006), basearam-se na determinação dos limites de detecção e quantificação, análise de repetibilidade, tempos de retenção, avaliação do desempenho e sensibilidade do equipamento, construção de curvas analíticas, materiais fortificados, brancos analíticos e calibração de vidrarias (Lanças, 2004; Ribani *et al.*, 2004; INMETRO, 2003; ASTM, 2002; USEPA, 1995; Miller & Miller, 1988).

Tabela 4: Compostos utilizados no preparo dos padrões externo, interno e de recuperação, bem como o fornecedor do padrão, grau de pureza, código do lote e validade do padrão

Composto	Padrão	Fornecedor	Grau de Pureza	Código do lote	Validade
Decilbenzeno (LAB 10)	Externo	Fluka	≥99,5% (CG)	78366	2009
Undecilbenzeno (LAB 11)	Externo	Aldrich	99%	113220	2011
Dodecilbenzeno (LAB 12)	Externo	Fluka	≥99,5% (CG)	44178	2009
Tridecilbenzeno (LAB 13)	Externo	Fluka	≥99,5% (CG)	91598	2009
Tetradecilbenzeno (LAB 14)	Externo	Fluka	≥99,5% (CG)	87204	2010
Nonadecilbenzeno (LAB 19)	Recuperação	Fluka	≥99,5% (CG)	74238	2009
Cafeína	Externo	Sigma Aldrich	-	C1778	2012
5α-colestanol	Interno	Fluka	≥96.0% (CG)	26700	2012
Androstanol	Recuperação	Sigma	-	48168	2009
Coprostanol	Externo	Sigma	≥98%	C7578	2012
Epicoprostanol	Externo	Sigma	≥95%	C2882	2012
Colesterol	Externo	Fluka	≥99.0% (CG)	26732	2010
Colestanol	Externo	Fluka	≥90% (CG)	26710	2012
Coprostanona	Externo	Sigma	-	C2152	2012
Colestanona	Externo	Sigma	-	C8128	2012
Ergosterol	Externo	Sigma	≥95%	45480	2010
β-sitosterol	Externo	Sigma	≥97.0% (CG)	S9889	2008
Campesterol	Externo	Sigma	~65%	C5157	2008
Estigmasterol	Externo	Sigma	~95%	S2424	2012
Estigmastanol	Externo	Sigma	≥95%	S4297	2012

3.6. Determinações realizadas

3.6.1. Taxa de sedimentação e datação

A taxa de sedimentação dos testemunhos #2 Félix, #3 Gererês, #4 Bóia 2 e #11 Benito foi realizada no Laboratório de Radioisótopos na Universidade Federal Fluminense (Prof. Dr. Sambasiva Rao Patchineetam), já para o testemunho #7 Cotinga, esta determinação foi realizada no Laboratório de Radioisótopos da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RIO) (Prof. Dr. José Marcus de Oliveira Godoy) através do método de espectrometria de raios-gama (^{210}Pb) descrita em Nascimento (2008).

Para os demais testemunhos, esta determinação ainda não foi realizada, tendo em vista que os equipamentos de ambos os laboratórios apresentaram problemas e as determinações não puderam ser completadas em tempo.

A partir da determinação das taxas de sedimentação média para cada perfil sedimentar, se obteve a datação aplicando a Equação 3 (Nascimento, 2008).

$$Data = \frac{ano\ coleta - prof(cm)}{taxa\ de\ sed.(média)}$$

Equação 3: Equação utilizada para efetuar o cálculo da datação para cada profundidade dos testemunhos analisados

3.6.2. Granulometria

A granulometria foi determinada no Laboratório de Oceanografia Geológica (LOG-FURG) de acordo com metodologia baseada em Suguio (1973), sendo peneiragem para os sedimentos grosseiros e pipetagem para os sedimentos finos. A classificação do material foi baseada na escala de Wentworth (1922) (Tabela 5).

Para o presente trabalho, os grãos foram classificados em areia e lama, o primeiro corresponde ao sedimento mais grosseiro e o segundo o mais fino, sendo o último ainda subdividido em duas frações, silte e argila.

Tabela 5: Escala de Wentworth para granulometria

Diâmetro do grão		Nomenclatura das classes granulométricas	Classificação
Ø	mm		
-11	2048	Muito grande	matacão
-10	1024	Grande	
-9	512	Médio	
-8	256	Pequeno	
-7	128	Grande	bloco
-6	64	Pequeno	
-5	32	Muito grosso	seixo
-4	16	Grosso	
-3	8	Médio	
-2	4	fino	
-1	2	Grânulo	areia
0	1	Muito grossa	
1	0,5	Grossa	
2	0,25	Média	
3	0,125	Fina	
4	0,062	Muito fina	
5	0,031	Muito grosso	silte
6	0,0156	Grosso	
7	0,0078	Médio	
8	0,0039	fino	
9	0,002	Muito fino	lama
10	0,00098	Muito grossa	
11	0,00049	Grossa	argila
12	0,00024	Média	
13	0,00012	Fina	
14	0,00006	Muito fina	

3.6.3. Análise do Carbono Orgânico Total (%COT)

O percentual de carbono orgânico total é expresso em porcentagem de massa de sedimento, representando as quantidades de carbono associado aos compostos orgânicos presentes nas amostras (Stein, 1991).

O %COT foi determinado de acordo com metodologia descrita em Yang *et al.* (1998) utilizando-se analisador elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre (CHNS), marca Perkin Elmer 2400 Série II do Laboratório de Hidroquímica da FURG (Figura 10). Uma massa exata entre 2,5 e 3,0 mg de cada amostra foi pesada em balança analítica e analisada pelo CHNS.

Para esta análise, toda a vidraria foi lavada e enxaguada com água corrente. As vidrarias foram imersas por dois dias em uma solução de ácido clorídrico (10%

v/v) preparada com água ultra pura do sistema Milli-Q[®]. Posteriormente, estas foram enxaguadas em água corrente e imersas por dois dias em água ultra pura e após foram secas em estufa com circulação forçada de ar e lâmpada UV.

As amostras secas de sedimento foram maceradas, pesadas (em torno de 1 g) e colocadas em placas de Petri previamente limpas. As placas de Petri contendo a amostra foram colocadas por 24 h no escuro em um dissecador especial contendo ácido clorídrico (HCl) concentrado, para a remoção de carbono inorgânico. Posteriormente, as amostras foram colocadas na estufa a 50 °C por 24 h, pesadas novamente e armazenadas em um dissecador até a análise no CHNS.

Amostras de referência certificadas MESS-1 (padrão de sedimento do *National Research Council Canada* com 2,99% de C) foram utilizadas para determinação da exatidão do método e do padrão acetanilida (71,09% de C) utilizadas para calibração do equipamento e validação do método. A média da exatidão medida pelo MESS-1 foi 99,6% ($\pm 0,99$, $n=3$) e a recuperação medida com a acetanilida foi de 100,14% ($\pm 0,15$, $n=3$).



Figura 10 – Analisador CHNS Perkin Elmer 2400 Série II

3.7. Otimização e validação de metodologias utilizadas

O procedimento de validação de métodos deve incluir todas as etapas necessárias para demonstrar que os resultados obtidos são confiáveis e reprodutíveis (Paschoal *et al.*, 2008). Para este estudo foram selecionados os parâmetros analíticos de validação (ou figuras de mérito), que são: linearidade, curva analítica, limite de detecção, limite de quantificação, seletividade, precisão e exatidão, sendo estes os mais usados para avaliar métodos de separação (Paschoal *et al.*, 2008; Lanças, 2004; Ribani *et al.*, 2004; INMETRO, 2003).

As metodologias utilizadas para análises dos marcadores moleculares (LABs, esteróides e cafeína) nos sedimentos do CEP foram otimizadas e validadas no CONECO, seguindo os métodos de validação descritos pelos autores citados acima.

3.7.1. Curva analítica e linearidade

Corresponde a capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância, dentro de uma determinada faixa de aplicação. A relação matemática entre o sinal e a concentração pode ser expressa como uma equação de reta chamada curva analítica (Ribani *et al.*, 2004).

Pela análise das curvas analíticas, são obtidos os coeficientes de determinação (r^2) e de acordo com INMETRO (2003) sugere-se que seja superior a 0,90, enquanto que a ANVISA (2003) recomenda um coeficiente de determinação igual a 0,99.

Em relação à linearidade, de acordo com Ribani *et al.* (2004) considera-se linear os pontos cujos valores de $(S_i/Q_i)\%$ estão no intervalo de $100\pm5\%$, ou seja, entre 95% e 105%. Para verificar se os pontos encontram-se dentro da região linear da curva, utiliza-se o teste da razão entre o sinal (S_i) e a concentração (Q_i), de acordo com a Equação 4 descrita abaixo.

$$\% \left(\frac{S_i}{Q_i} \right) = \frac{S_i - b}{Q_i} \times \frac{100}{a} \quad \text{Equação 4 - Linearidade}$$

De acordo com esta equação, b corresponde ao coeficiente linear e a corresponde ao coeficiente angular da curva analítica, sendo que os valores de S_i e Q_i são obtidos na construção da curva analítica, através dos parâmetros da área do pico e concentração do analito, respectivamente.

3.7.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

O LD é a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, enquanto que o LQ representa a menor concentração da substância em exame que pode ser quantificada utilizando um determinado procedimento experimental (Paschoal *et al.*, 2008; Lanças, 2004).

Os limites de detecção e de quantificação foram calculados pelo método baseado em parâmetros da curva analítica, sendo este mais confiável estatisticamente de acordo com Ribani *et al.* (2004), utilizando-se a Equação 5 e a Equação 6, respectivamente:

$$LD = 3,3 \frac{s}{S} \quad \text{Equação 5 - Limite de Detecção}$$

$$LQ = 10 \frac{s}{S} \quad \text{Equação 6 - Limite de Quantificação}$$

De acordo com as equações acima, s é o coeficiente angular, podendo também ser representado por a enquanto que S é o coeficiente linear da curva de calibração que também pode ser representado por b .

3.7.3. Seletividade

Corresponde à capacidade de um método em determinar o analito de maneira inequívoca na presença de outras substâncias susceptíveis de interferirem na determinação (INMETRO, 2003). A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (Ribani *et al.*, 2004).

3.7.4. Precisão

Precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas (INMETRO, 2003). A precisão em validação de métodos é considerada em três níveis diferentes: repetitividade, precisão intermediária e reprodutividade (Ribani *et al.*, 2004), sendo que no presente estudo serão avaliados os dois primeiros casos.

A repetitividade ($\% \text{RSD}_r$) é o grau de concordância entre os resultados de medições repetidas de uma mesma medida, efetuadas sobre as mesmas condições de medição, ou seja, mesmo procedimento de medição, mesmo observador, mesmo instrumento usado nas mesmas condições, mesmo local e curto espaço de tempo (Ribani *et al.*, 2004). A precisão é expressa, normalmente, através do desvio padrão relativo ($\% \text{RSD}$) em um número significativo de amostra (Paschoal *et al.*, 2008).

Já a precisão intermediária ($\% \text{RSD}_{pi}$) refere-se à precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório ou em laboratórios diferentes, variando uma das seguintes condições: diferentes analistas, diferentes equipamentos ou diferentes tempos (INMETRO, 2003). O objetivo da validação da precisão intermediária é verificar que no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados (Ribani *et al.*, 2004).

A precisão é expressa pela estimativa do desvio padrão absoluto (s) e desvio padrão relativo ($\% \text{RSD}$) ou coeficiente de variação, que podem ser calculados através da Equação 7 e da Equação 8, respectivamente. A precisão requerida para

análise de traços em amostras ambientais requer %CV com valor até 20% (Ribani *et al.*, 2004).

$$s = \sqrt{\frac{\sum (X_i - X_{\text{média}})^2}{n-1}} \quad \text{Equação 7 – Desvio padrão absoluto}$$

Onde X_i é a área do pico, ou seja, o valor de uma medição; $X_{\text{média}}$ é a média dos picos da mesma concentração, ou seja, é a média aritmética de um pequeno número de medições; n é o número de vezes que a mesma concentração foi injetada ($n=7$).

$$RSD(\%) \text{ ou } CV(\%) = \frac{s}{X_{\text{média}}} \times 100 \quad \text{Equação 8 – Coeficiente de variação relativa do padrão}$$

3.7.5. Exatidão (Recuperação)

O estudo da recuperação (R) consiste na fortificação da amostra, ou seja, adição de uma solução analítica com diferentes concentrações definidas do analito de interesse, seguida da determinação da concentração do analito adicionado (Lanças, 2004).

De acordo com Ribani *et al.* (2004) os níveis de adição de padrão, em uma amostra de sedimento livre de contaminação, são 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação obtido. No entanto, para os valores de massa obtidos após a extração do sedimento e determinação por GC-EM são denominados de *massa obtida*, e a *massa real* é o valor adicionado na fortificação, calculados através do percentual de recuperação (%R) através da Equação 9.

$$R(\%) = \frac{\text{massa obtida}}{\text{massa real}} \times 100 \quad \text{Equação 9- Percentual de Recuperação (exatidão)}$$

Os limites aceitos para o processo de validação de métodos cromatográficos para o estudo das recuperações variam entre 70 e 120% (Ribani *et al.*, 2004).

3.8. Análise por Cromatografia em fase Gasosa com detecção de Espectrometria de Massas (CG-EM)

As análises dos compostos de interesse foram realizadas em um cromatógrafo de fase gasosa equipado com um amostrador automático, injetor *Split/Splitless*, analisador do tipo quadrupolo e detector de espectrometria de massas (Perkin Elmer modelo Clarus 500 MS) (Figura 11).

As condições de operação do cromatógrafo foram as seguintes:

- Coluna cromatográfica capilar Elite - 5MS (5% Difenil – 95% Dimetil Polisiloxano) com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e revestida internamente com 0,25 μm de filme.

- Modo de injeção: modo splitless, com fluxo de 50 mL de hélio após 1 min.

- Temperatura do injetor: 300 °C.

- Seringa: 5 μL .

- Volume de injeção: 1 μL de amostra.

- Gás carreador: hélio, com fluxo constante de 1,3 mL min⁻¹. Controle de pressão externo para fluxo constante na coluna.

- Programa de temperatura dos esteróides e cafeína: 60 - 250 °C a 15 °C min⁻¹; 250 - 280 °C a 1 °C min⁻¹; 280 - 300 °C a 5 °C min⁻¹ e, isotérmico a 300 °C por 5 min. O tempo total de corrida foi de 51,7 min.

- Programa de temperatura dos LABs: isotérmico a 60 °C por 1 min; 60 - 290 °C a 13 °C min⁻¹; isotérmico a 290 °C por 5 min; 290 - 300 °C a 30 °C min⁻¹ e, isotérmico a 300 °C por 5,97 min. O tempo total de corrida foi de 30 min.

Condições para identificação dos isômeros dos LABs

Para se obter resultados de LABs mais consistentes a fim de não subestimá-los e para avaliar o grau de degradação destes compostos no ambiente, foram identificados e quantificados os isômeros dos alquilbenzenos lineares (LABs), que são: 2-C₁₀-LAB, 3-C₁₀-LAB, 4-C₁₀-LAB, 5-C₁₀-LAB, 2-C₁₁-LAB, 3-C₁₁-LAB, 4-C₁₁-LAB, 5-C₁₁-LAB, 6-C₁₁-LAB, 2-C₁₂-LAB, 3-C₁₂-LAB, 4-C₁₂-LAB, 5-C₁₂-LAB, 6-C₁₂-LAB, 2-C₁₃-LAB, 3-C₁₃-LAB, 4-C₁₃-LAB, 5-C₁₃-LAB, 6-C₁₃-LAB.

A identificação desses isômeros se deu através da comparação entre os espectros de massas obtidos nas análises em Preston & Raymundo (1992) e Penteado (2005), onde a partir de seus fragmentogramas característicos pode-se identificar cada isômero.

O espectrômetro de massa trabalhou nas seguintes condições:

- Modo de aquisição: SIFI (do inglês *Selected Ion and Full Ion Scanning*, que em português significa íon selecionado e escaneamento completo de íon), onde o equipamento CG-EM da Perkin Elmer Clarus 500 realiza em uma única injeção a aquisição pelo modo *full scan* (que é programado para analisar as massas determinadas que no presente trabalho foi de 40 a 500 *m/z*) e monitoramento seletivo de íons (SIM - do inglês *Single Ion Monitoring*), sendo que a quantificação foi feita pelo modo de monitoramento seletivo de íons.

- Temperatura da fonte: 200 °C.
- Temperatura da linha de transferência: 280 °C.
- Taxa de aquisição: 2,5 scans seg⁻¹.
- Impacto de elétrons: 70 eV.



Figura 11 – CG-EM Perkin Elmer Modelo Clarus 500 MS

Os íons monitorados (um para quantificação e dois para confirmação), ou seja, as massas dos principais fragmentos moleculares (m/z) resultantes da quebra, utilizados para a identificação dos compostos estudados encontram-se descritos na Tabela 6, bem como as respectivas massas moleculares e o tempo de retenção na coluna cromatográfica de cada composto.

Tabela 6: Relação dos compostos analisados, suas massas moleculares (MM), tempos de retenção (t_R) e seus respectivos íons de quantificação (Q) e confirmação (C 1, C 2 e C3)

Compostos	MM (g mol ⁻¹)	t_R (min)	Q (m/z)	C 1 (m/z)	C 2 (m/z)	C 3 (m/z)
5 α -colestane	372	14,19	341	-	-	-
Androstanol	276	16,06	333	-	-	-
Cafeína	194	11,98	194	109	-	-
Coprostanol	389/460*	30,51	215	355	370	-
Epicoprostanol	389/460*	31,78	215	257	161	-
Coprostanona	386	33,17	231	161	316	-
Colesterol	387/458*	33,88	213	129	329	-
Colestanol	389/460*	34,28	215	460	355	-
Colestanona	386	34,68	386	231	371	-
Ergosterol	397/470*	36,94	363	-	-	-
Campesterol	401/472*	37,73	382	343	367	-
Estigmasterol	413/484*	38,71	394	484	355	-
β -sitosterol	415/486*	41,07	396	357	486	-
Estigmastanol	417/486*	41,55	215	-	-	-
Decilbenzeno (1-C ₁₀)	218	12,78	92	91	105	218
2-C ₁₀	218	12,05	105	92	91	-
3-C ₁₀	218	11,90	91	105	92	-
4-C ₁₀	218	11,65	91	105	92	-
5-C ₁₀	218	11,53	91	105	92	-
Undecilbenzeno (1-C ₁₁)	232	13,69	92	91	105	232
2-C ₁₁	232	13,00	105	92	91	-
3-C ₁₁	232	12,64	91	105	92	-
4-C ₁₁	232	12,42	91	105	92	-
5-C ₁₁	232	12,33	91	105	92	-
6-C ₁₁	232	12,14	91	105	92	-
Dodecilbenzeno (1-C ₁₂)	246	14,57	92	91	105	246
2-C ₁₂	246	13,90	105	92	91	-
3-C ₁₂	246	13,57	91	105	92	-
4-C ₁₂	246	13,35	91	105	92	-
5-C ₁₂	246	13,24	91	105	92	-
6-C ₁₂	246	13,20	91	105	92	-
Tridecilbenzeno (1-C ₁₃)	260	15,42	91	91	105	260
2-C ₁₂	260	14,77	105	92	91	-
3-C ₁₂	260	14,44	91	105	92	-
4-C ₁₂	260	14,22	91	105	92	-
5-C ₁₂	260	14,11	91	105	92	-
6,7-C ₁₂	260	14,04	91	105	92	-
Tetradecilbenzeno (1-C ₁₄)	274	16,21	92	91	105	274
Nonadecilbenzeno (1-C ₁₉)	344	19,77	92	91	105	344

*esteróis com o peso molecular alterado pela ligação do grupo proveniente do agente derivatizante de acordo com Wang *et al.* (2008) e Stefens (2006).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Otimização e validação de metodologias utilizadas

4.1.1. Método dos Alquilbenzenos Lineares (LABs)

O método para análise de LABs descrito na literatura, dentre eles em Penteado (2005) e Takada *et al.*(2004) têm um tempo de corrida de mais de 1 h. Com a finalidade de diminuir o tempo de análise, o método foi otimizado de forma que a separação dos compostos não fosse prejudicada, reduzindo o tempo de corrida sem perda da resolução.

Foram testadas três diferentes condições cromatográficas (Figura 12 a, b e c) através das mudanças das rampas de temperatura a partir de uma corrida original (d), até se obter uma combinação da melhor separação com o menor tempo de corrida. Para se ter chegado a melhor separação dos compostos em um tempo de corrida de 30 min (Figura 12a), basicamente a rampa de temperatura foi alterada em relação ao método original (Figura 12d). Os testes estão presentes na Tabela 7.

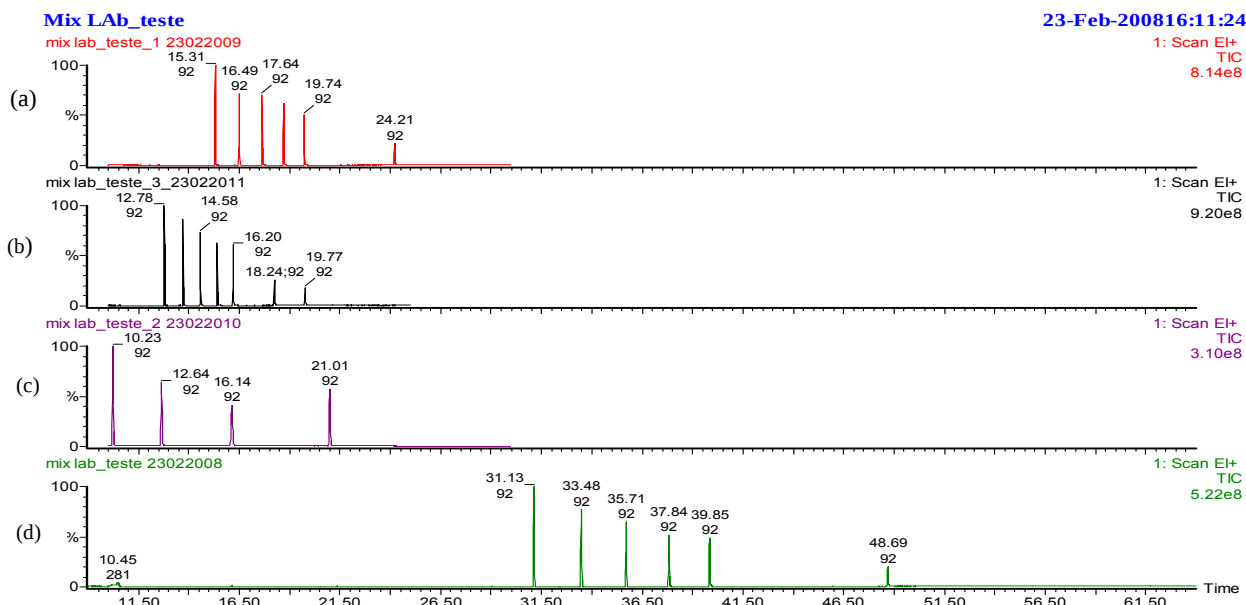


Figura 12 – Cromatogramas (CG-EM modo Scan) das análises dos 6 LABs com íons m/z 92 com diferentes rampas de temperatura.

Tabela 7: Condições cromatográficas dos testes realizados para a obtenção da melhor separação por CG-EM dos 6 LABs analisados em um menor tempo de corrida, onde as letras a, b e c representam os testes realizados a partir de uma corrida original (d)

Corrida	T_i (°C)	Perma- nência (min)	Taxa (°C min ⁻¹)	T_1 (°C)	Perma- nência (min)	Taxa (°C min ⁻¹)	T_2 (°C)	Perma- nência (min)	Tempo total da corrida (min)
A	60	1	13	290	5	30	300	5,97	30
B	100	1	20	190	1,5	45	290	1	22
C	60	1	10	290	5	10	300	-	30
D	40	1	20	60	5	5	290	12	65

T_i (°C): Temperatura inicial, T_1 (°C): Temperatura 1, T_2 (°C): Temperatura 2

4.1.1.1. Linearidade e curva analítica

As soluções padrão de LABs foram preparadas com concentrações entre 0,2 a 4000 ng mL⁻¹. A melhor linearidade foi obtida quando foi separado em duas faixas de concentração: uma curva alta (concentrações variando entre 50 e 4000 ng mL⁻¹) (Tabela 8) e uma curva baixa (entre 0,2 e 50 ng mL⁻¹) (Tabela 9). As dezessete concentrações das soluções padrão para os 6 LABs, 1-C₁₀-LAB – decilbenzeno (LAB10), 1-C₁₁-LAB – undecilbenzeno (LAB11), 1-C₁₂-LAB – dodecilbenzeno (LAB12), 1-C₁₃-LAB – tridecilbenzeno (LAB13), 1-C₁₄-LAB – tetradecilbenzeno (LAB14) e 1-C₁₉-LAB – nonadecilbenzeno (LAB19) foram injetadas da menor

concentração para a maior, a fim de se preparar a curva analítica e se analisar as demais figuras de mérito.

Os coeficientes de determinação (r^2) obtidos pela análise das curvas analíticas de alta e baixa foram todos superiores a 0,99 (Tabela 10 e Tabela 11, respectivamente), atendendo a recomendações da ANVISA (2003). A Figura 13 e a Figura 14 mostram as curvas analíticas geradas pelas menores e maiores concentrações, respectivamente, assim como o r^2 , coeficientes linear e angular de cada uma.

As concentrações de cada alquilbenzeno linear (LAB) analisado separadamente, que obtiveram linearidade de acordo com a aplicação da Equação 4, estão detalhadas para a curva alta (Tabela 10) e curva baixa (Tabela 11), bem como o coeficiente de determinação (r^2), coeficientes angular (a) e linear (b) para cada curva analítica gerada. Os resultados encontram-se dentro da faixa aceitável, que compreende entre 95 e 105%, segundo INMETRO (2003) e Ribani *et al.* (2004), estando estas curvas aptas para serem trabalhadas.

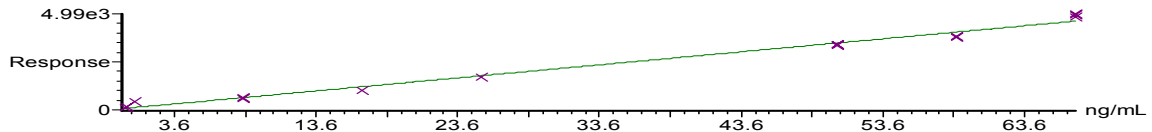
Tabela 8: Concentrações dos 6 padrões de LABs para a curva alta, calculados separadamente, para o teste de linearidade (n=7)

Padrão	Curva alta (ng mL ⁻¹)									
	Concentrações individuais dos padrões									
LAB10	3360	1680	840	420	168	84	67	59	50	42
LAB11	4880	2440	1220	610	244	122	98	85	73	61
LAB12	4000	2000	1000	500	200	100	80	70	60	50
LAB13	3931	1965	983	491	196	98	79	69	59	49
LAB14	3968	1984	992	496	198	99	79	69	59	50
LAB19	3120	1560	780	390	156	78	62	55	47	39

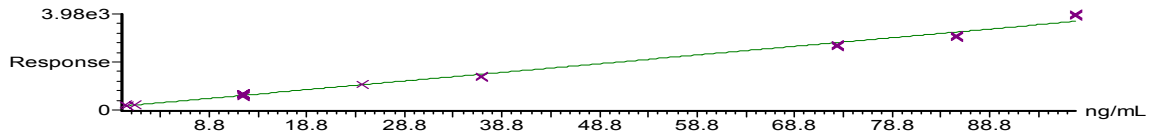
Tabela 9: Concentrações dos 6 padrões de LABs para a curva baixa, calculados separadamente, para o teste de linearidade (n=7)

Padrão	Curva baixa (ng mL ⁻¹)							
	Concentrações individuais dos padrões							
LAB10	42	34	25	17	12	8	0,8	0,2
LAB11	61	49	37	24	17	12	1,0	0,3
LAB12	50	40	30	20	14	10	1,0	0,3
LAB13	49	39	29	20	14	10	1,0	0,2
LAB14	50	40	30	20	14	10	1,0	0,2
LAB19	39	31	23	16	11	8	0,8	0,2

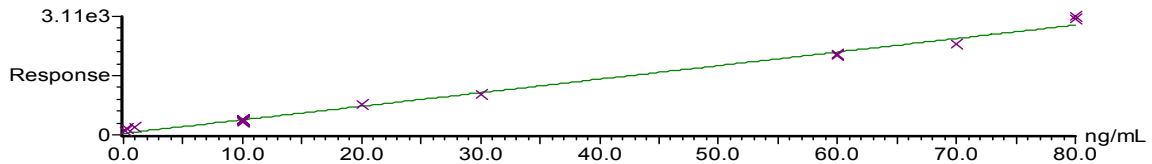
Compound 1 name: LAB10
 Correlation coefficient: $r = 0.995120$, $r^2 = 0.990264$
 Calibration curve: $67.6947 * x + 63.7070$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



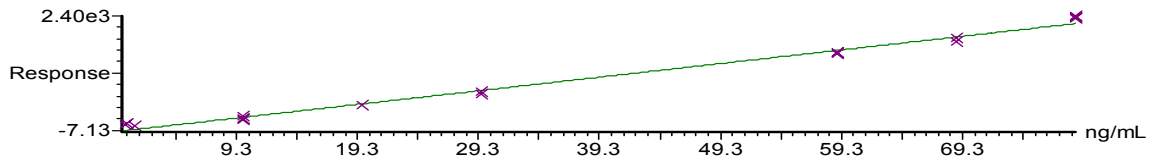
Compound 2 name: LAB11
 Correlation coefficient: $r = 0.995059$, $r^2 = 0.990142$
 Calibration curve: $35.9804 * x + 165.443$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



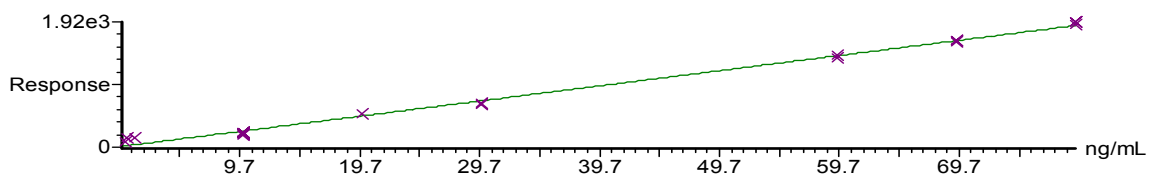
Compound 3 name: LAB12
 Correlation coefficient: $r = 0.995536$, $r^2 = 0.991092$
 Calibration curve: $35.5890 * x + 37.9876$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 4 name: LAB13
 Correlation coefficient: $r = 0.995694$, $r^2 = 0.991406$
 Calibration curve: $28.5868 * x + -7.13387$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 5 name: LAB14
 Correlation coefficient: $r = 0.997496$, $r^2 = 0.994998$
 Calibration curve: $23.2890 * x + 15.2447$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 6 name: LAB19
 Correlation coefficient: $r = 0.995062$, $r^2 = 0.990148$
 Calibration curve: $7.87071 * x + -11.4390$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None

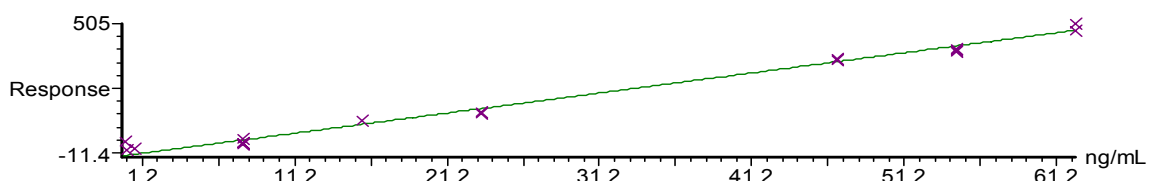
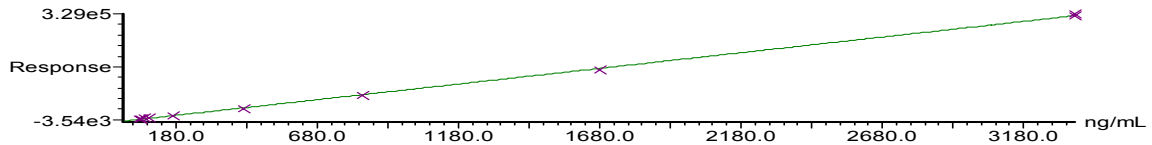
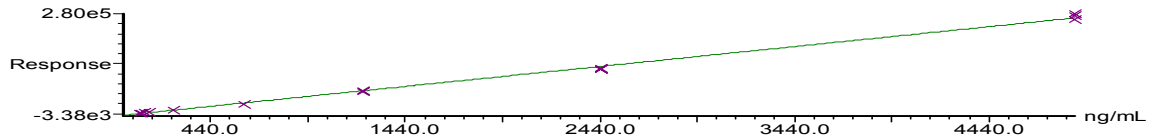


Figura 13 – Curvas analíticas dos LABs (1-C₁₀, 1-C₁₁, 1-C₁₂, 1-C₁₃, 1-C₁₄ e 1-C₁₉) geradas, referente a curva baixa (0,2 a 50 ng mL⁻¹)

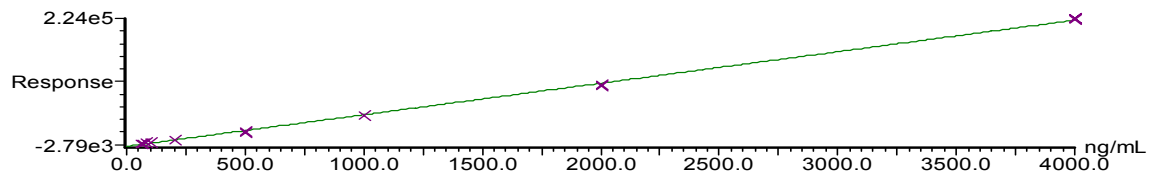
Compound 1 name: LAb10
 Correlation coefficient: $r = 0.999615$, $r^2 = 0.999229$
 Calibration curve: $97.1734 * x + -3543.49$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



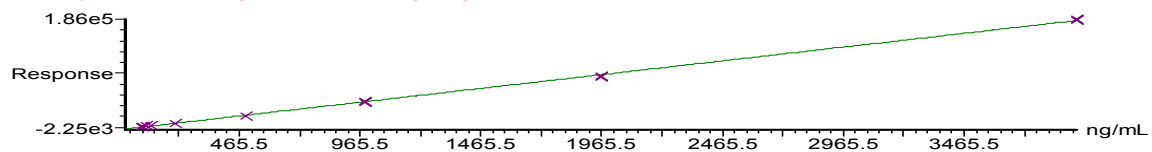
Compound 2 name: LAb11
 Correlation coefficient: $r = 0.998934$, $r^2 = 0.997870$
 Calibration curve: $55.7696 * x + -3384.37$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



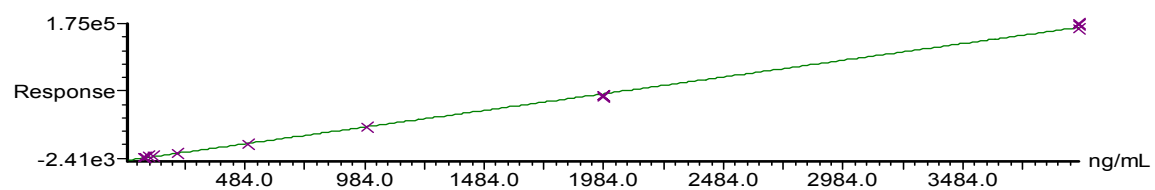
Compound 3 name: LAb12
 Correlation coefficient: $r = 0.999550$, $r^2 = 0.999101$
 Calibration curve: $55.9001 * x + -2785.69$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 4 name: LAb13
 Correlation coefficient: $r = 0.999679$, $r^2 = 0.999358$
 Calibration curve: $47.4227 * x + -2247.73$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 5 name: LAb14
 Correlation coefficient: $r = 0.999348$, $r^2 = 0.998696$
 Calibration curve: $43.3637 * x + -2413.79$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 6 name: LAb19
 Correlation coefficient: $r = 0.997474$, $r^2 = 0.994954$
 Calibration curve: $19.8488 * x + -1513.88$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None

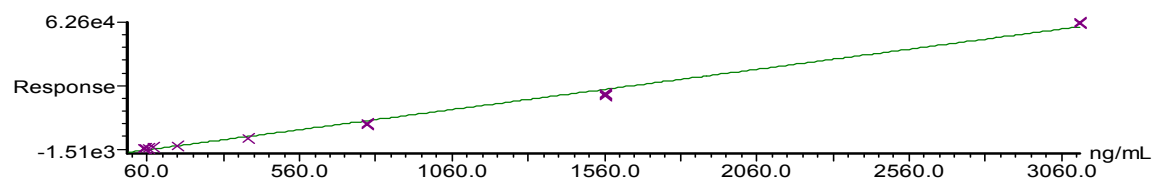


Figura 14 – Curvas analíticas dos LABs (1-C₁₀, 1-C₁₁, 1-C₁₂, 1-C₁₃, 1-C₁₄ e 1-C₁₉) geradas, referente a curva alta (50 a 4000 ng mL⁻¹)

Tabela 10: Resultados das concentrações (curva alta) que obtiveram linearidade de acordo com o cálculo da equação 4, bem como, os coeficientes de determinação (r^2), angular (a) e linear (b) para cada LAB analisado (n=7)

Composto	Concentração (ng mL⁻¹)	% S_i/Q_i
LAB10	168	100
$r^2 = 0,9992$	840	98
$b = 3543,49$	1680	97
$a = 97,17$	3360	101
LAB11	244	102
$r^2 = 0,9978$	1220	97
$b = 3384,37$	2440	95
$a = 55,77$	4880	103
LAB12	200	101
$r^2 = 0,9991$	1000	98
$b = 2785,69$	2000	97
$a = 55,90$	4000	101
LAB13	197	98
$r^2 = 0,9994$	983	99
$b = 2247,73$	1966	97
$a = 47,42$	3931	101
LAB14	198	98
$r^2 = 0,9987$	992	99
$b = 2413,79$	1984	95
$a = 43,36$	3968	101

Tabela 11: Resultados das concentrações (curva baixa) que obtiveram linearidade de acordo com o cálculo da equação 4, bem como, os coeficientes de determinação (r^2), angular (a) e linear (b) para cada LAB analisado (n=7)

Composto	Concentração (ng mL⁻¹)	% S_i/Q_i
LAB10	8,4	105
$r^2 = 0,9902$	25,2	97
$b = 23,40$	50,4	97
$a = 68,57$		
LAB11	73,2	95
$r^2 = 0,9901$		
$b = 157,39$		
$a = 36,07$		
LAB12	30	96
$r^2 = 0,9910$	60	96
$b = 14,46$		
$a = 36,90$		
LAB13	29,48	96
$r^2 = 0,9914$	58,97	95
$b = 65,46$		
$a = 30,10$		
LAB14	59,52	95
$r^2 = 0,9949$		
$b = 53,86$		
$a = 25,32$		

4.1.1.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação calculados com base nos coeficientes linear e angular variaram entre 0,05 a 0,09 ng mL⁻¹ e 0,16 a 0,27 ng mL⁻¹, respectivamente. Entretanto, como para as análises de extração de sedimento foi utilizado 15 g de amostra, desta forma, os limites de quantificação são menores, pois são divididos por 15, variando de 0,01 a 0,02 ng g⁻¹ (Tabela 12).

Tabela 12: Coeficientes linear (S) e angular (s), Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), Limite de Quantificação (LQ) com a amostra 15 vezes concentrada (que consistiu em dividir os LQ por 15), das curvas analíticas obtidas através de determinações de padrões de LABs (n=7)

LAB	S (coef. linear)	s (coef. angular)	LD (ng mL ⁻¹)	LQ (ng mL ⁻¹)	LQ (ng g ⁻¹) amostra 15 vezes concentrada
10	-3543,49	97,17	0,09	0,27	0,02
11	-3384,37	55,77	0,05	0,16	0,01
12	-2785,69	55,90	0,07	0,20	0,01
13	-2247,73	47,42	0,07	0,21	0,01
14	-2413,79	43,36	0,06	0,18	0,01

4.1.1.3. Seletividade

O método demonstrou ser seletivo, tendo em vista que os LABs são retirados na mesma fração dos hidrocarbonetos alifáticos, ou seja, na Fração 1 (F1), sendo que a presença dos hidrocarbonetos alifáticos (*m/z* 57) não interfere na análise dos LABs (*m/z* 92). O número que consta acima dos íons, refere-se aos tempos de retenção (*t_R*) (Figura 15).

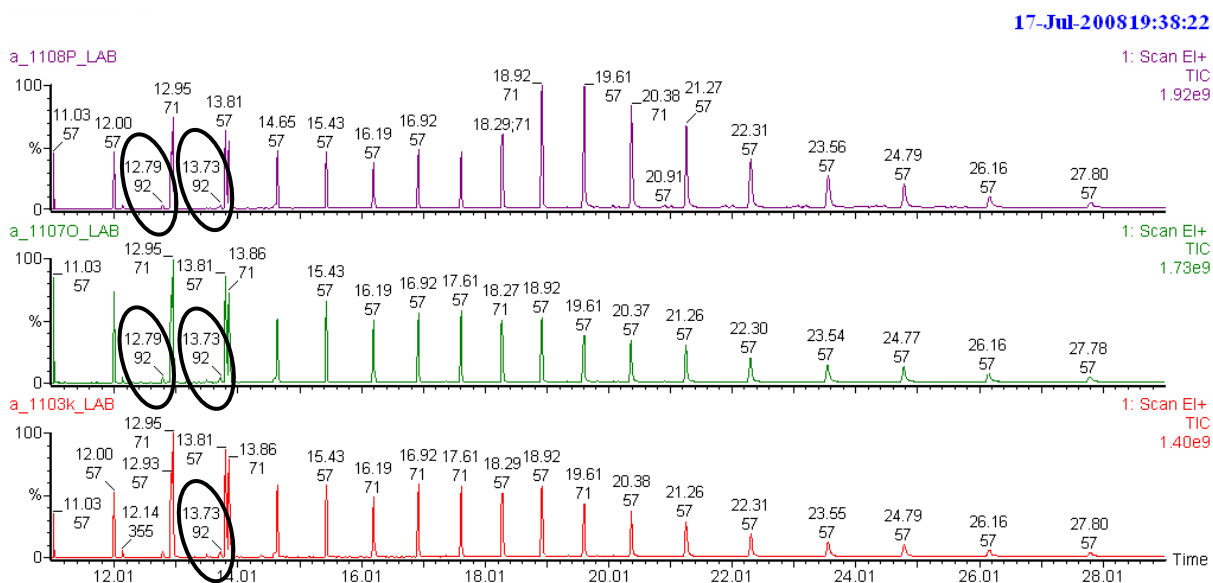


Figura 15 – Exemplo de três corridas da Fração 1 (F1), no modo Scan, no qual os hidrocarbonetos alifáticos (m/z 57) e os LABs (m/z 92) são obtidos, demonstrando a seletividade do método

4.1.1.4. Precisão (repetitividade e precisão intermediária)

A repetitividade do instrumento (Tabela 14), expressa em termos de desvio padrão relativo ($\%RSD_r$), foi obtida efetuando-se a injeção de 3 níveis de concentração em triplicata (0,2; 50 e 4000 ng mL⁻¹) das soluções analíticas no sistema CG-EM, onde estas concentrações foram selecionadas em relação as curvas analíticas. A repetitividade do método analítico foi avaliada através da extração por Soxhlet até a análise no equipamento CG-EM dos analitos determinados nas amostras fortificadas. Cada um dos 3 níveis de fortificação foi extraído 3 vezes, e cada um dos extratos foi injetado 3 vezes no cromatógrafo de fase gasosa com detector de espectrometria de massas. Em ambos os casos utilizou-se as equações 6 e 7 para a realização dos cálculos.

Para avaliar a precisão intermediária do instrumento ($\% RSD_{pi}$) empregou-se dias diferentes na análise das soluções analíticas e também diferentes analistas. O $\%RSD_{pi}$ do método, empregaram-se dias diferentes de análise das amostras fortificadas com 3 diferentes níveis. A precisão requerida para análise de traços em amostras ambientais requer $\%CV$ ou $\%RSD$ com valor até 20% (Ribani *et al.*, 2004),

porém os resultados obtidos apresentaram um valor médio de %CV inferior a 3% indicando uma boa precisão do método (tabelas 13 e 14).

Tabela 13: Resultados da precisão em termos de repetitividade (%RSD_r) do método e do instrumento e o percentual de recuperação (%R), referente a análise das amostras fortificadas com 3 diferentes níveis de concentrações

Composto	0,2 ng mL ⁻¹		50 ng mL ⁻¹		4000 ng mL ⁻¹	
	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r
	método	instrumento	método	instrumento	método	instrumento
LAB 10	2,03	1,78	1,77	1,34	0,87	0,59
LAB 11	1,98	1,45	1,60	1,82	0,53	0,87
LAB 12	2,74	1,91	1,88	1,33	1,65	1,22
LAB 13	1,83	1,99	0,85	0,58	1,03	0,80
LAB 14	1,99	1,69	1,27	1,98	0,68	0,55
LAB 19	2,79	2,07	1,99	1,74	1,34	1,87

Tabela 14: Resultados de precisão em termos de precisão intermediária em relação ao percentual do coeficiente de variação (%CV) ou desvio padrão relativo (%RSD_{pi}), para cada LAB obtido através de nove repetições

Composto	%CV ou %RSD _{pi} instrumento	%CV ou %RSD _{pi} método
LAB10	0,84	1,87
LAB11	1,51	2,98
LAB12	1,13	2,11
LAB13	0,85	1,92
LAB14	1,57	3,34
LAB19	1,81	2,76

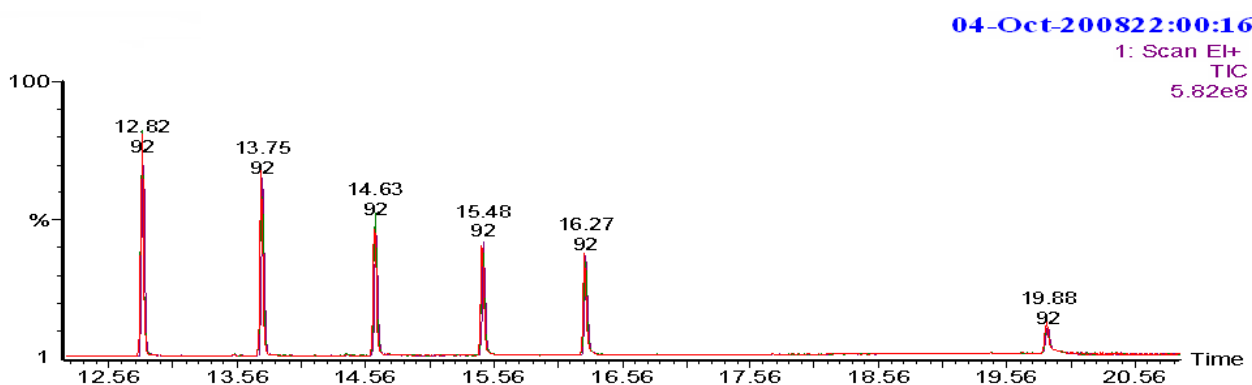


Figura 16 – Exemplo de picos sobrepostos de uma mesma concentração para checar a repetibilidade dos LABs (corridas no modo Scan), onde aparecem os íons m/z 92 e acima destes os tempos de retenção dos 6 LABs (n=7)

4.1.1.5. Exatidão

Os níveis de adição de padrão são 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação. Como foi obtido $0,27 \text{ ng mL}^{-1}$ para o maior limite de quantificação, as concentrações dos padrões de LABs utilizadas para avaliar a recuperação foram 0,27; 0,54 e $2,7 \text{ ng mL}^{-1}$.

A Tabela 15 apresenta os valores das recuperações (R%) e seus respectivos desvio padrão relativos (RSD%), bem como as concentrações utilizadas para a o teste da exatidão. Todos os valores encontrados estão entre $87,88 \pm 0,04$ e $102,83 \pm 0,15\%$ indicando que estes valores estão dentro dos limites aceitos para o teste da exatidão (70 e 120%) (Ribani *et al.*, 2004).

Tabela 15: Percentuais de recuperação (R%) e desvio padrão relativo (RSD%) para os alquilbenzenos lineares (LABs) (n=3)

Compostos	0,27 ng mL ⁻¹		0,54 ng mL ⁻¹		2,7 ng mL ⁻¹	
	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)
LAB 10	95,65	0,21	95,56	0,02	97,56	0,01
LAB 11	87,88	0,17	99,24	0,04	99,55	0,01
LAB 12	92,59	0,17	99,06	0,03	99,81	0,01
LAB 13	96,15	0,10	96,23	0,02	101,89	0,02
LAB 14	88,89	0,15	98,11	0,04	102,83	0,01

4.1.2. Método dos Esteróides e Cafeína

Como a cafeína e os esteróides são obtidos na F3 do fracionamento, foi proposto um método de análise em conjunto para estes marcadores moleculares, especialmente pelo fato da cafeína não sofrer nenhum tipo de modificação molecular ao passar pelo processo de derivatização.

O método utilizado para análise de esteróis é baseado e adaptado de Niencheski & Fillmann (2006), enquanto que a cafeína seguiu metodologia modificada de Mitra & Rice (2007). O método foi otimizado de forma que pudessem ser analisados, ao mesmo tempo, treze esteróides e a cafeína, ambos retirados na

terceira fração (F3), sendo que nestes treze esteróides estão inclusos o padrão interno e o padrão de recuperação. O tempo total de corrida é de 51,7 min.

4.1.2.1. Linearidade e curva analítica

As soluções de esteróides e cafeína foram preparadas com concentrações entre 5 e 4000 ng mL⁻¹, sendo que esta faixa de concentrações foi separada em duas para se obter uma melhor linearidade, sendo que a curva baixa variou entre 5 – 100 ng mL⁻¹ (Tabela 16) e a curva alta variou entre 100 - 4000 ng mL⁻¹ (Tabela 17).

As doze concentrações das soluções padrão para os compostos, cafeína, androstanol, coprostanol, epicoprostanol, coprostanona, colesterol, colestanol, colestanona, ergosterol, campesterol, estigmasterol, β-sitosterol e estigmastanol foram injetados da menor concentração para a maior, a fim de se preparar a curva analítica e se analisar as demais figuras de mérito.

Através da curva analítica gerada (Figura 17), obteve-se o coeficiente de determinação (r^2), que de acordo com a ANVISA (2003), é recomendado que seja superior a 0,99 e pode-se observar que todos alcançaram um valor superior ao determinado por este órgão (Tabela 18).

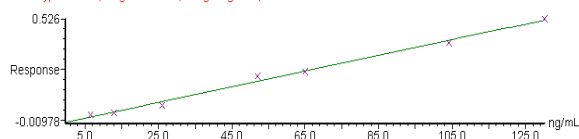
Tabela 16: Concentrações dos 13 padrões (esteróides e cafeína), calculados separadamente, para o teste da linearidade referente à curva baixa (n=7)

Padrão	Concentrações individuais dos padrões para a curva baixa (5-100 ng mL⁻¹)						
Cafeína	6,5	13	26	52	65	104	130
Androstanol	6	12	24	48	60	96	120
Coprostanol	6,5	13	26	52	65	104	130
Epicoprostanol	13,5	27	54	108	135	216	270
Coprostanona	6,5	13	26	52	65	104	130
Colesterol	10,5	21	42	84	105	168	210
Colestanol	9	18	36	72	90	144	180
Colestanona	8	16	32	64	80	128	160
Ergosterol	6	12	24	48	60	96	120
Campesterol	4	8	16	32	40	64	80
Estigmasterol	5	10	20	40	50	80	100
B-sitosterol	2,5	5	10	20	25	40	50
Estigmastanol	5	10	20	40	50	80	100

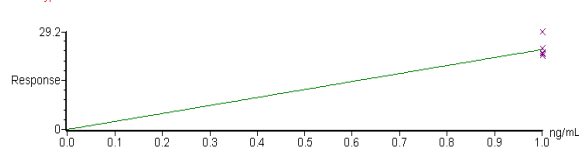
Tabela 17: Concentrações dos 13 padrões (esteróides e cafeína), calculados separadamente, para o teste da linearidade referente à curva alta (n=7)

Padrão	Concentrações individuais dos padrões para a curva alta (100-4000 ng mL⁻¹)					
Cafeína	130	260	650	1300	2600	5200
Androstanol	120	240	600	1200	2400	4800
Coprostanol	130	260	650	1300	2600	5200
Epicoprostanol	270	540	1350	2700	5400	10800
Coprostanona	130	260	650	1300	2600	5200
Colesterol	210	420	1050	2100	4200	8400
Colestanol	180	360	900	1800	3600	7200
Colestanona	160	320	800	1600	3200	6400
Ergosterol	120	240	600	1200	2400	4800
Campesterol	80	160	400	800	1600	3200
Estigmasterol	100	200	500	1000	2000	4000
β-sitosterol	50	100	250	500	1000	2000
Estigmastanol	100	200	500	1000	2000	4000

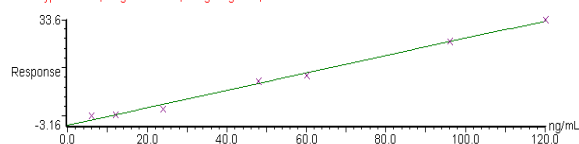
Compound 1 name: Cafeina
Correlation coefficient: $r = 0.996411$, $r^2 = 0.992634$
Calibration curve: $0.00407594 * x + -0.00977597$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



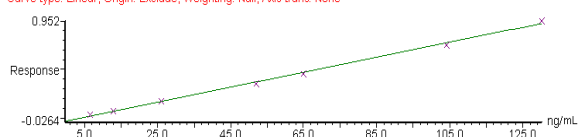
Compound 2 name: 5 α -Colestane
Response Factor: 23.8086
Response type: External Std, Area
Curve type: RF



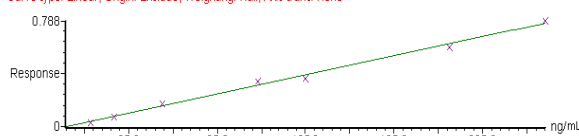
Compound 3 name: Androstano
Correlation coefficient: $r = 0.996842$, $r^2 = 0.993695$
Calibration curve: $0.303205 * x + -3.16322$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



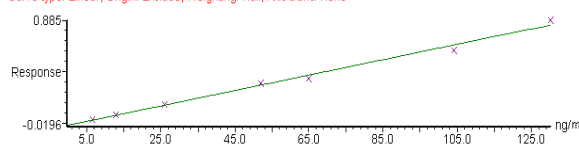
Compound 4 name: Coprostanol
Correlation coefficient: $r = 0.998998$, $r^2 = 0.997996$
Calibration curve: $0.00739811 * x + -0.0263873$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



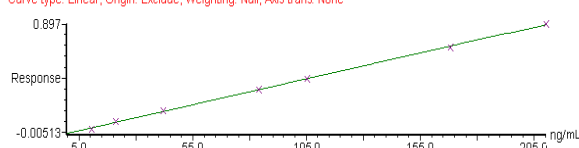
Compound 5 name: Epicooprostanol
Correlation coefficient: $r = 0.997211$, $r^2 = 0.994430$
Calibration curve: $0.00285159 * x + 0.000300679$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



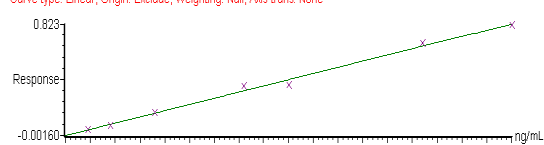
Compound 6 name: Coprostanona
Correlation coefficient: $r = 0.995786$, $r^2 = 0.991589$
Calibration curve: $0.00663725 * x + -0.0195903$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



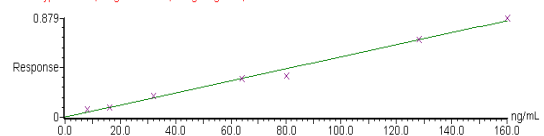
Compound 7 name: Colesterol
Correlation coefficient: $r = 0.999787$, $r^2 = 0.999575$
Calibration curve: $0.00427894 * x + -0.00513995$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



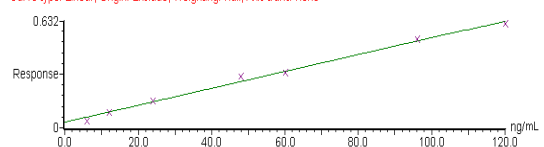
Compound 8 name: Colestanol
Correlation coefficient: $r = 0.996651$, $r^2 = 0.993313$
Calibration curve: $0.00458225 * x + -0.00160443$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



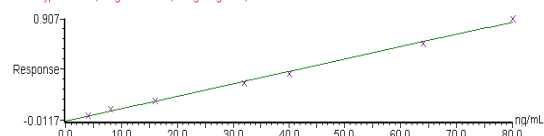
Compound 9 name: Colestanona
Correlation coefficient: $r = 0.996001$, $r^2 = 0.992019$
Calibration curve: $0.00534414 * x + 0.00187675$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



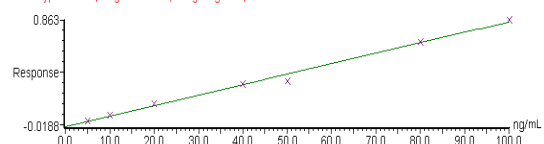
Compound 10 name: Ergosterol
Correlation coefficient: $r = 0.995695$, $r^2 = 0.991409$
Calibration curve: $0.00498367 * x + 0.0337987$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



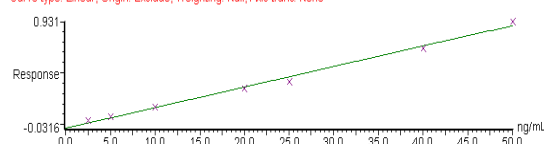
Compound 11 name: Campesterol
Correlation coefficient: $r = 0.998415$, $r^2 = 0.996833$
Calibration curve: $0.0111426 * x + -0.0116914$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 12 name: Estigmastrol
Correlation coefficient: $r = 0.996664$, $r^2 = 0.993339$
Calibration curve: $0.00866361 * x + -0.0187740$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 13 name: b-Sitosterol
Correlation coefficient: $r = 0.997194$, $r^2 = 0.994395$
Calibration curve: $0.0185450 * x + -0.0316363$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 14 name: Estigmastanol
Correlation coefficient: $r = 0.999348$, $r^2 = 0.998697$
Calibration curve: $0.00894321 * x + -0.00534468$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None

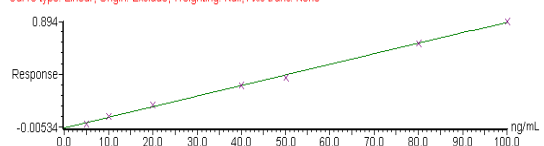
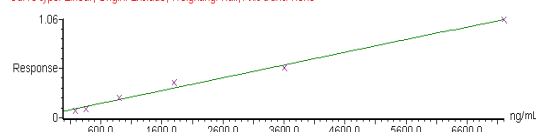


Figura 17 – Curvas analíticas dos esteróides (inclusive do padrão interno 5 α -colestano) e da cafeína, referentes à curva baixa (5-100 ng mL⁻¹)

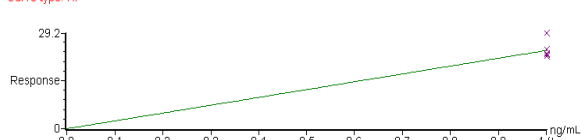
Compound 1 name: Cafeína
Correlation coefficient: $r = 0.997524$, $r^2 = 0.995054$
Calibration curve: $0.0213969 * x + -1.40290$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



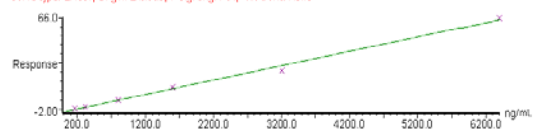
Compound 8 name: Colestano
Correlation coefficient: $r = 0.995055$, $r^2 = 0.990135$
Calibration curve: $0.000136639 * x + 0.0727272$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



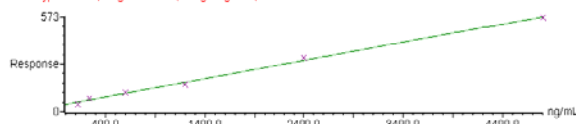
Compound 2 name: 5α-Colestano
Response Factor: 23.8086
Response type: External Std, Area
Curve type: RF



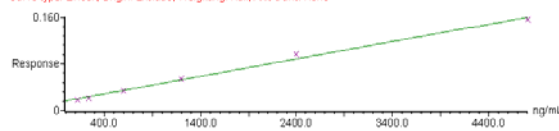
Compound 9 name: Colestanona
Correlation coefficient: $r = 0.997032$, $r^2 = 0.994072$
Calibration curve: $0.0104003 * x + -2.00310$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



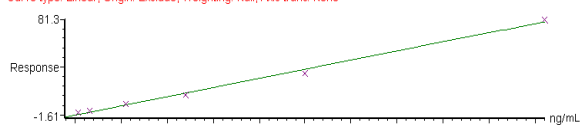
Compound 3 name: Androstano
Correlation coefficient: $r = 0.997636$, $r^2 = 0.995277$
Calibration curve: $0.109020 * x + 45.3006$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



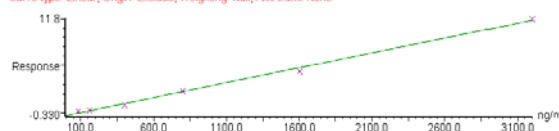
Compound 10 name: Ergosterol
Correlation coefficient: $r = 0.996795$, $r^2 = 0.993601$
Calibration curve: $2.97420e-5 * x + 0.0167896$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



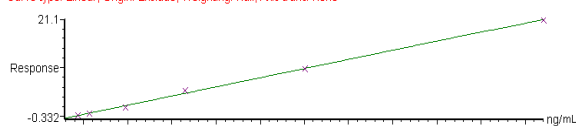
Compound 4 name: Coprostanol
Correlation coefficient: $r = 0.997499$, $r^2 = 0.994992$
Calibration curve: $0.0155671 * x + -1.60516$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



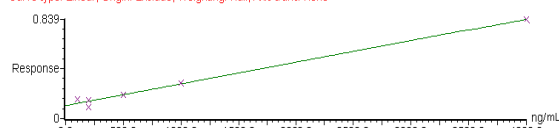
Compound 11 name: Campesterol
Correlation coefficient: $r = 0.995503$, $r^2 = 0.997009$
Calibration curve: $0.00372097 * x + -0.330478$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



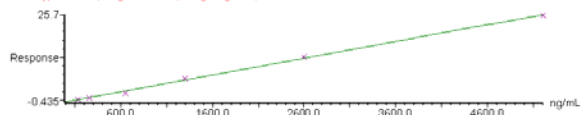
Compound 5 name: Epicoprostanol
Correlation coefficient: $r = 0.998837$, $r^2 = 0.997675$
Calibration curve: $0.00198731 * x + -0.331818$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



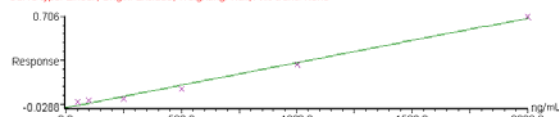
Compound 12 name: Estigmastrol
Correlation coefficient: $r = 0.995484$, $r^2 = 0.990988$
Calibration curve: $0.000182344 * x + 0.109608$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



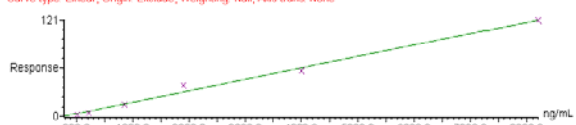
Compound 6 name: Coprostanona
Correlation coefficient: $r = 0.998352$, $r^2 = 0.996707$
Calibration curve: $0.00501709 * x + -0.435306$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 13 name: β-Sitosterol
Correlation coefficient: $r = 0.995935$, $r^2 = 0.991086$
Calibration curve: $0.000360100 * x + -0.0208448$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 7 name: Colesterol
Correlation coefficient: $r = 0.995296$, $r^2 = 0.990614$
Calibration curve: $0.0143159 * x + 0.602396$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 14 name: Estigmastanol
Correlation coefficient: $r = 0.995698$, $r^2 = 0.991415$
Calibration curve: $0.00819524 * x + -0.305790$
Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None

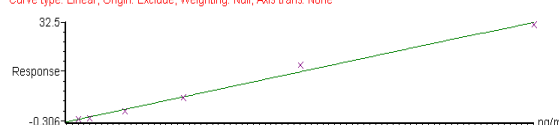


Figura 18 - Curvas analíticas dos esteróides (inclusive do padrão interno 5α-colestano) e da cafeína, referentes à curva alta (100-4000 ng mL⁻¹)

4.1.2.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação calculados com base nos coeficientes linear e angular variaram entre 0,004 e 0,65 ng mL⁻¹ e 0,01 e 1,97 ng mL⁻¹, respectivamente. Entretanto, como para as análises de extração de sedimento foi utilizado 15 g de amostra, desta forma, os limites de quantificação são menores, pois são divididos por 15, variando de 0,001 a 0,131 ng g⁻¹ (Tabela 18).

Tabela 18: Coeficientes linear (S), angular (s) e determinação (r²), Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), Limite de Quantificação (LQ) com a amostra 15 vezes concentrada (que consistiu em dividir os LQ por 15) dos esteróides e da cafeína (n=7)

Composto	S (coef.linear)	s (coef.angular)	LD (ng mL ⁻¹)	LQ (ng mL ⁻¹)	LQ (ng g ⁻¹) amostra 15 vezes concentrada	r ²
Cafeína	10,254	0,113	0,04	0,11	0,007	0,9950
Androstanol	12,837	2,526	0,65	1,97	0,131	0,9952
Coprostanol	4,979	0,084	0,06	0,17	0,011	0,9949
Epicoprostanol	0,316	0,010	0,10	0,31	0,021	0,9976
Coprostanona	1,548	0,025	0,05	0,16	0,011	0,9967
Colesterol	5,121	0,073	0,05	0,14	0,010	0,9906
Colestanol	0,302	0,001	0,01	0,02	0,002	0,9901
Colestanona	0,691	0,053	0,25	0,77	0,051	0,9940
Ergosterol	0,309	0,001	0,01	0,02	0,001	0,9936
Campesterol	1,005	0,019	0,06	0,18	0,012	0,9970
Estigmasterol	0,749	0,001	0,004	0,01	0,001	0,9909
b-Sitosterol	0,325	0,003	0,03	0,10	0,006	0,9918
Estigmastanol	0,525	0,040	0,25	0,77	0,051	0,9914

4.1.2.3. Precisão

A precisão, em termo de repetitividade e precisão intermediária, foi avaliada da mesma forma que foi utilizada para os LABs, utilizando os mesmos parâmetros descritos em 4.1.1.4.

A repetitividade do instrumento (Tabela 19), expressa em termos de desvio padrão relativo (%RSD_r), foi obtida efetuando-se a injeção de 3 níveis de concentração em triplicata (5; 80 e 4000 ng mL⁻¹) das soluções analíticas no sistema CG-EM, onde estas concentrações foram selecionadas em relação as curvas

analíticas. A repetitividade do método analítico foi avaliada através da extração por Soxhlet até a análise no equipamento CG-EM dos analitos determinados nas amostras fortificadas. Cada um dos 3 níveis de fortificação foi extraído 3 vezes, e cada um dos extratos foi injetado 3 vezes no cromatógrafo de fase gasosa com detector de espectrometria de massas. Em ambos os casos utilizou-se as equações 6 e 7 para a realização dos cálculos.

Para avaliar a precisão intermediária do instrumento (% RSD_{pi}) empregou-se dias diferentes na análise das soluções analíticas e também diferentes analistas. O %RSD_{pi} do método, empregaram-se dias diferentes de análise das amostras fortificadas com 3 diferentes níveis (Tabela 20).

A precisão requerida para análise de traços em amostras ambientais requer %CV ou %RSD com valor até 20% (Ribani *et al.*, 2004), porém os resultados obtidos apresentaram um valor médio de %CV inferior a 4% indicando uma boa precisão do método (tabelas 19 e 20).

Tabela 19: Resultados da precisão, em termos de repetitividade (%RSD_r) do método e do instrumento e o percentual de recuperação (%R), referente a análise das amostras fortificadas com 3 diferentes níveis de concentrações

Composto	5 ng mL ⁻¹		80 ng mL ⁻¹		4000 ng mL ⁻¹	
	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r	%RSD _r
	método	instrumento	método	instrumento	método	instrumento
Cafeína	1,79	1,29	1,03	0,69	0,89	0,54
Androstanol	1,99	1,23	1,22	0,68	0,77	0,36
Coprostanol	2,57	1,22	1,87	0,35	1,02	0,64
Epicoprostanol	3,91	2,90	2,97	1,82	2,33	0,72
Coprostanona	3,89	2,88	3,06	2,09	2,98	1,87
Colesterol	2,90	2,01	2,23	1,93	2,05	1,02
Colestanol	2,51	1,75	1,89	1,13	0,98	1,00
Colestanona	2,89	2,91	1,66	1,00	0,99	0,82
Ergosterol	3,99	2,81	3,04	2,13	2,54	1,39
Campesterol	3,02	2,01	2,76	1,09	1,83	0,51
Estigmasterol	2,88	2,00	1,83	0,53	0,78	0,22
β-sitosterol	2,72	1,82	1,45	0,90	0,63	0,38
Estigmastanol	2,01	1,66	1,78	0,92	0,92	0,47

Tabela 20: Resultados de precisão em termos de precisão intermediária em relação ao percentual do coeficiente de variação (%CV) ou desvio padrão relativo (%RSD_{pi}), para a cafeína e os esteróides, obtido através de nove repetições

Composto	%CV ou %RSD_{pi} instrumento	%CV ou %RSD_{pi} método
Cafeína	0,32	0,69
Androstanol	0,54	0,98
Coprostanol	0,29	0,62
Epicoprostanol	0,88	2,52
Coprostanona	0,75	1,91
Colesterol	1,23	2,89
Colestanol	1,67	3,01
Colestanona	1,76	2,81
Ergosterol	1,98	3,58
Campesterol	1,10	2,43
Estigmasterol	0,56	1,02
β-sitosterol	0,26	1,99
Estigmastanol	0,79	2,73

4.1.2.4. Exatidão

Os níveis de adição são 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação. Como foi obtido 1,97 ng mL⁻¹ para o maior limite de quantificação (Tabela 21), as concentrações dos padrões de esteróides e cafeína utilizadas para a recuperação foram 1,97; 3,94 e 19,7 ng mL⁻¹.

A Tabela 21 apresenta os valores das recuperações (R%) e seus respectivos desvio padrão relativos (RSD%), bem como as concentrações utilizadas para o teste da exatidão. Todos os valores encontrados estão entre 73,22% ± 0,30 e 107,86% ± 0,88, estando dentro da faixa aceitável, que é entre 70 e 120% segundo Ribani *et al.* (2004).

Tabela 21: Percentuais de recuperação (R%) e desvio padrão relativo (RSD%) para a cafeína e os esteróides (n=3)

Compostos	1,97 ng mL ⁻¹		3,94 ng mL ⁻¹		19,7 ng mL ⁻¹	
	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)
Cafeína	86,41	0,44	90,47	0,35	97,56	0,25
Androstanol	80,12	0,48	92,41	0,26	97,16	0,33
Coprostanol	83,76	1,06	89,79	0,37	94,16	0,29
Epicoprostanol	88,12	0,84	98,26	0,13	97,76	0,45
Coprostanona	82,47	0,71	97,40	0,09	96,08	0,32
Colesterol	94,01	1,14	104,88	0,29	103,35	0,18
Colestanol	86,35	1,03	95,67	0,22	95,88	0,34
Colestanona	87,72	1,08	97,25	0,13	95,16	0,27
Ergosterol	84,94	0,51	97,25	0,09	96,95	0,25
Campesterol	73,22	0,88	88,42	0,26	107,86	0,30
Estigmasterol	95,43	1,00	96,42	0,10	107,20	0,06
β-sitosterol	89,14	0,11	91,34	0,12	101,57	0,08
Estigmastanol	91,14	0,57	93,83	0,17	95,93	0,12

4.2. Taxa de sedimentação média e datação

Para determinação da taxa de sedimentação e datação, foram analisados quatro testemunhos, todos com uma profundidade de 60 cm. A datação foi realizada pelo método denominado CIC (*Constant Initial Concentration*).

Esses pontos analisados abrangem zonas com influência antrópica (#2 Félix, #4 Bóia 2, #3 Gererês) e um local mais afastado dos centros urbanos (#11 Benito) (Figura 19).

A maior taxa de sedimentação encontrada foi na superfície (topo) do testemunho #11 Benito, referente a 2,52 cm ano⁻¹, local considerado como Controle. Este fato pode ser justificado pela presença das áreas de manguezal característico desta região, o que facilita a sedimentação das partículas em suspensão no ambiente, o outro fator que pode justificar esse aumento é a presença de rios na região, que pela erosão transporta sedimentos até o estuário e também pela baixa hidrodinâmica do local, visto que localiza-se no eixo norte do CEP onde não se tem um transporte intenso de embarcações favorecendo assim a deposição dos sedimentos.

O testemunho #4 Bóia 2 apresentou taxa de sedimentação igual a 1,77 cm ano⁻¹ (topo), sendo que este alto valor pode ser explicado pela presença de rios que deságuam perto do local amostrado, pela presença de material particulado que ao entrar em contato com a água salgada do estuário tende a precipitar.

Já a menor taxa de sedimentação superficial ocorreu em #3 Gererês (0,79 cm ano⁻¹), onde há influência significativa de correntes de marés que circundam toda a região estuarina, fato este que dificulta a deposição dos sedimentos.

O testemunho #2 Félix (Ponta do Félix) foi o que apresentou uma menor geocronologia, ou seja, menor idade nos 60 cm analisados, em torno de 15 anos, enquanto que a maior foi encontrada para o testemunho #3 Gererês que foi em torno de 70 anos.

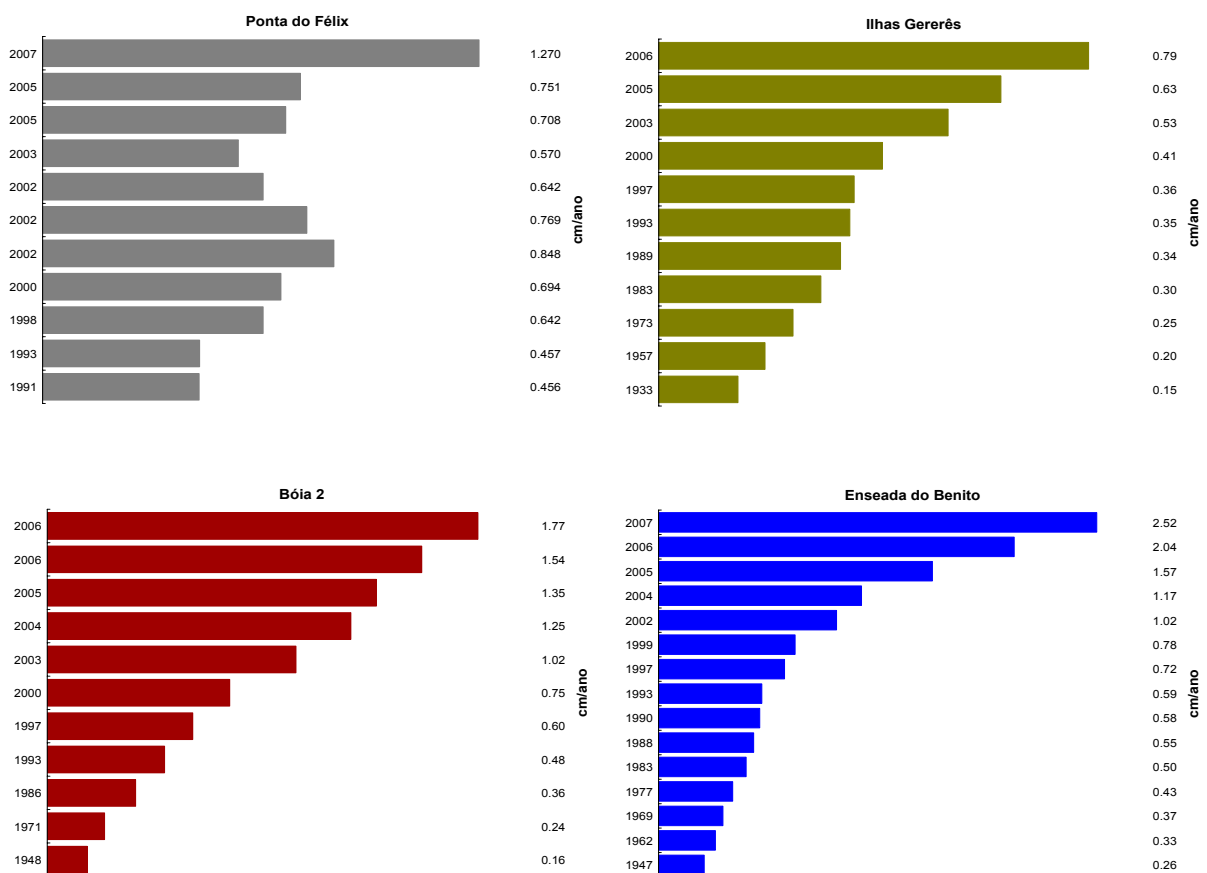


Figura 19 - Taxas de sedimentação e datação para os testemunhos analisados #2 Félix, #3 Gererês, #4 Bóia 2 e #11 Benito

4.3. Granulometria

A granulometria foi determinada nos sedimentos objetivando-se verificar a existência de correlação entre o tamanho do grão, o percentual de matéria orgânica e o aporte de contaminantes orgânicos. Geralmente quanto maior a quantidade de sedimentos finos compostos por silte e argila, maior será a capacidade de adsorverem e acumularem compostos orgânicos, porém se estiver muito próximo a fonte, os níveis independem do tipo de sedimento (Darling *et al.*, 2002). A granulometria também fornece informações sobre a hidrodinâmica da área, que influencia os processos deposicionais no local.

A granulometria foi determinada para as classes de areia, silte e argila para todas as camadas dos testemunhos coletados (Figura 20). Houve grande variação na determinação da granulometria para cada testemunho amostrado, destacando-se maior proporção de sedimentos finos (silte+argila) nas regiões urbanizadas, enquanto nas regiões mais afastadas da urbanização houve predominância de areias finas. Os sedimentos dos locais amostrados localizados nas regiões urbanizadas (#2 Félix, #3 Gererês e #4 Bóia 2) tiveram predomínio em toda a extensão do perfil sedimentar de sedimentos finos (silte e argila), o que facilita a deposição de contaminantes orgânicos. Em #10 Itaqui, região afastada de ambientes urbanizados houve predomínio de silte e argila desde a base do testemunho (92 cm) até os 40 cm, entre as profundidades de 15 a 18 cm e no topo do perfil sedimentar (0 a 1 cm).

O mesmo ocorreu nos testemunhos #11 Benito e #12 Guapicum, que houve um percentual de sedimentos finos equivalente a 20% em camadas sub-superficiais e que a concentração de contaminantes também foi marcante.

Em #1 Ponta da Graciosa - Antonina, os sedimentos compostos por silte e argila estavam localizados na base do perfil sedimentar, entre as profundidades de 73 e 87 cm e entre 25 e 57 cm, já o restante do testemunho era composto por areia. Os demais testemunhos analisados apresentaram um predomínio de sedimentos arenosos em todas as camadas, sendo que a areia fina foi a que mais se destacou.

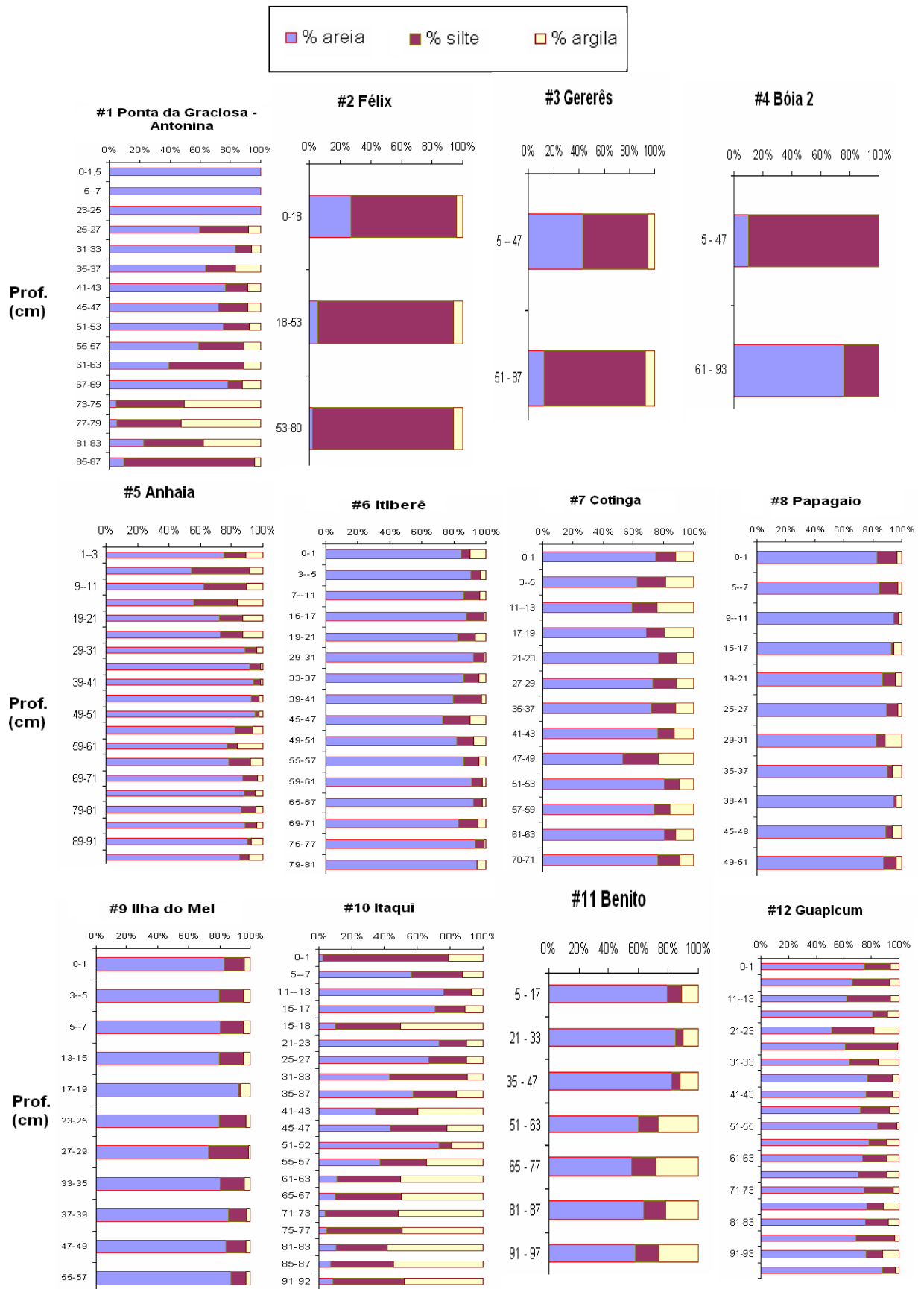


Figura 20 – Dados de granulometria para os 12 testemunhos sedimentares coletados no CEP

De acordo com as características geológicas da região, o predomínio de areia observado no testemunho #1 Ponta da Graciosa – Antonina pode ser justificado pela erosão ocorrida nas encostas e que através das correntes, transportam esta areia a qual se deposita nas margens aonde este testemunho foi coletado.

A baía de Paranaguá recebe aporte dos rios Cachoeira, Faisqueira, Nhundiaquara e Guaraguacu, além do Itiberê e o Anhaia, que margeiam a cidade de Paranaguá. Os testemunhos #2 Félix, #3 Gererês e #4 Bóia 2, onde houve predomínio de silte e argila, localizam-se nesta baía e isto justificaria tanto a granulometria quanto o %COT determinados para esta região, pois pode ter ocorrido intensa carga de matéria orgânica e material em suspensão provindos dos rios, que também contribui com parcelas de areia fina.

Outra característica relevante nesta região é o transporte de sedimentos e partículas orgânicas, especialmente importantes para a viabilização dos portos de Antonina e Paranaguá, que depende diretamente da manutenção dos canais de acesso que sofrem processos periódicos de colmatção. O processo de transporte é o mecanismo pelos quais os sedimentos são redistribuídos e depende de uma série de fatores, como variações no regime de correntes, fontes potenciais de fluxo de sedimentos, rugosidades do fundo, tamanho do grão e ação das ondas sobre o fundo. Os sedimentos trazidos pelos rios possuem ciclos de transporte, deposição e ressuspensão, de modo que o tempo gasto e a distância percorrida entre a carreação dos sedimentos pelo rio e sua deposição final, dependem do regime oceanográfico costeiro e do comportamento sazonal de descarga do rio (Noernberg, 2001). Todas estas características podem acarretar modificações das características dos sedimentos.

Já na baía de Laranjeiras, localiza-se a enseada de Itaqui, onde desembocam os rios Guaraqueçaba, Serra Negra, Açungui, Tagaçaba e Morato (Lana, 1986), o que possibilita também a deposição de matéria orgânica e sedimentos finos nos testemunhos #10 Itaqui e #12 Guapicum. Desta forma, os resultados granulométricos para as amostras coletadas estão de acordo com que se esperava encontrar nestas regiões.

4.4. Carbono Orgânico Total (%COT)

O carbono é o constituinte onipresente nas moléculas orgânicas. O conteúdo de COT preservado nos sedimentos dos oceanos possui correlação direta com a produtividade das águas superficiais. Variações na produção e nas condições de preservação do COT marinho, e o aumento no aporte do COT terrígeno, são fatores que contribuem particularmente para a deposição deste elemento nos sedimentos (Stein, 1991). Estudos apontam relação positiva entre o COT presente nos sedimentos com a possível presença de contaminantes orgânicos, se o aporte de carbono de origem antrópica for muito maior que o aporte de carbono de origem natural (Kim *et al.*, 1999).

A porcentagem de COT nas amostras coletadas no CEP apresentou concentrações que variaram de 0,06% em #8 Papagaio (31-33 cm) e 3,16% em #1 Ponta da Graciosa - Antonina (29-31 cm). Valores considerados altos foram encontrados em #3 Gererês (3,08% em 1-3 cm), #2 Félix (2,77% em 91-93 cm) e #4 Bóia 2 (2,75% em 39-41cm) (Figura 21).

Os testemunhos que apresentaram pequeno aporte de matéria orgânica, abaixo de 1%, foram # 5 Itiberê e #9 Ilha do Mel. Os demais apresentaram picos com teor de carbono superior a 1% como, por exemplo, #5 Anhaia entre 11-23 cm (1,13%) e 81-83 cm (2,51%), porém valores menores que 1% predominaram no restante do testemunho e em #8 Papagaio, onde o único extrato de testemunho que apresentou %COT maior que 1% (1,19%) foi entre 21 e 23 cm. Os valores mais elevados para o %COT foram encontrados no testemunho #2 Félix, onde todas as porcentagens foram superiores a 1%, chegando a um pico de 2,77% na profundidade de 91-93 cm.

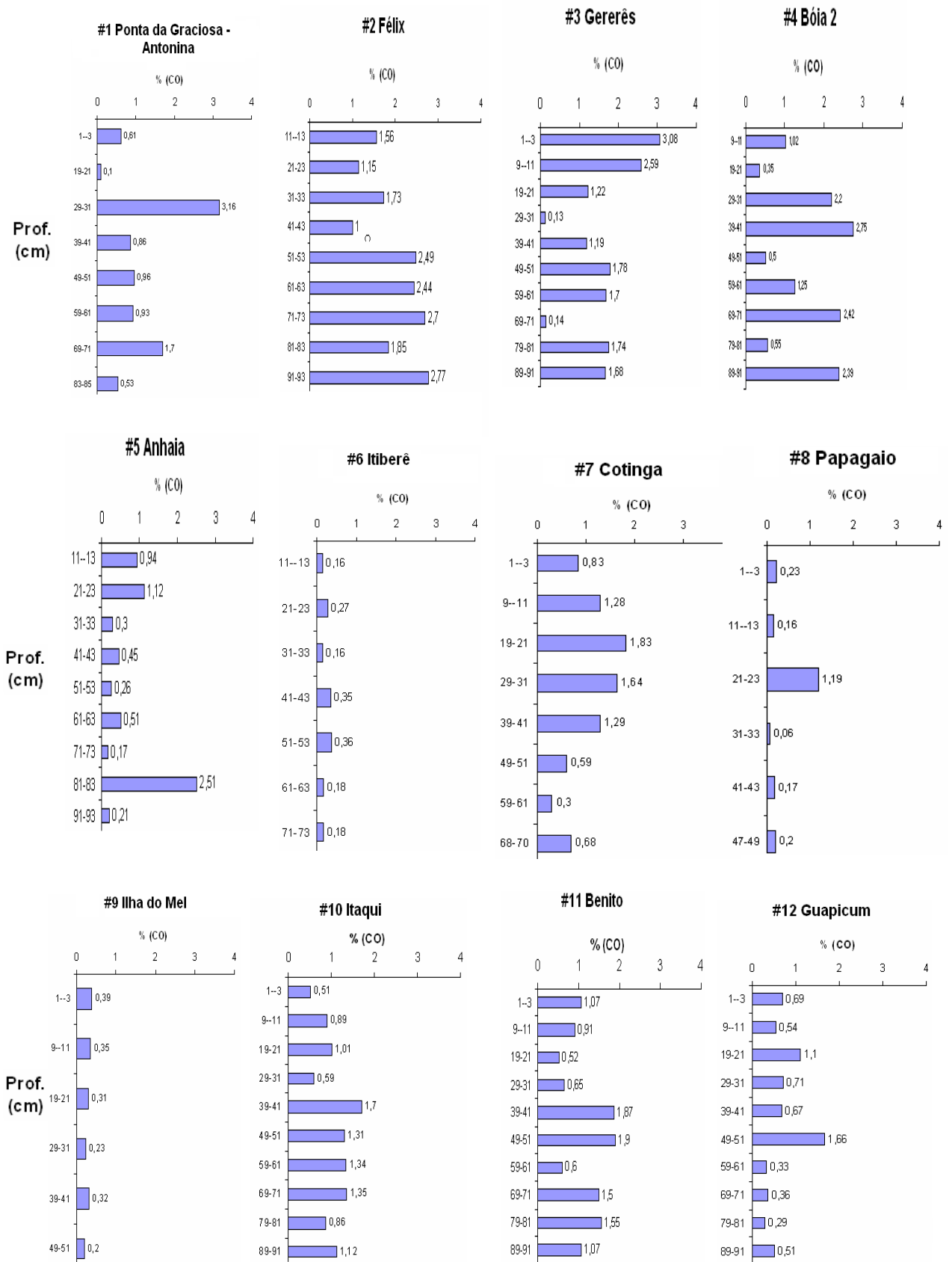


Figura 21 – %Carbono Orgânico Total (%COT) para os 12 testemunhos analisados no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP)

Estudos realizados por Bay *et al.* (2003) apontam para uma relação direta entre granulometria dos sedimentos e seu teor de carbono orgânico (Figura 22), sugerindo que, num processo de deposição normal, sedimentos finos (maior teor de silte e argila) geralmente apresentam alto teor de %COT, como pode ser visto em testemunhos como # 2 Félix, # 3 Gererês e # 4 Bóia 2 que apresentaram maiores proporções de sedimentos finos (silte) e %COT. Estes resultados encontrados estão de acordo com resultados obtidos por Ignácio (2007), que analisou sedimentos superficiais para a mesma região.

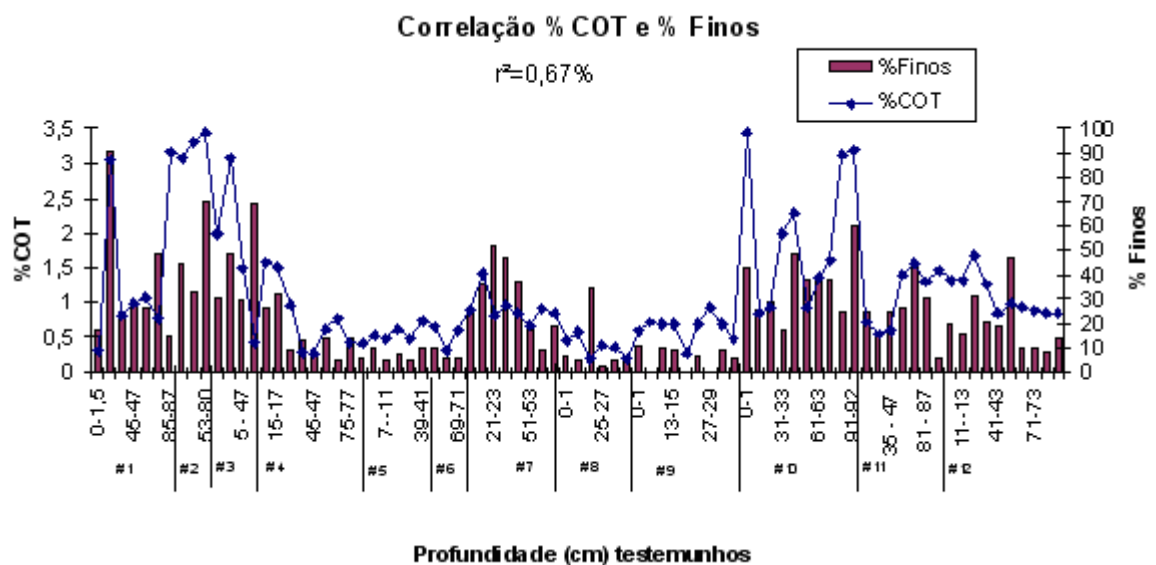


Figura 22 – Correlação entre os sedimentos finos (silte e argila) e % carbono orgânico total (%COT) para os testemunhos coletados no CEP

4.5. Alquilbenzenos Lineares (LABs)

Os resultados referentes aos LABs analisados estão expressos como percentual relativo de cada uma das séries homólogas de LABs (Figura 23), o somatório total dos LABs no perfil sedimentar (Figura 24) e a sua concentração em cada série homóloga de LAB por camada sedimentar (Figura 25).

Dentre os LABs analisados, os homólogos com 12, 13 e 11 átomos de carbono foram os mais abundantes, respectivamente, enquanto que os isômeros com 14 átomos de carbono não foram identificados em nenhuma amostra. Os LABs com 12 átomos de carbono (C₁₂-LAB) são normalmente os mais abundantes nas formulações comerciais de detergentes (Medeiros *et al.*, 2005). Já o homólogo (C₁₄) geralmente não é encontrado em amostras ambientais, como visto em estudos de Medeiros *et al.* (2005) e Luo *et al.* (2008), possivelmente por ser dentre os LABs analisados o menos persistente no ambiente (Rosso, 2005; Bayona & Albaiges, 2004; Raymundo & Preston, 1992) e estar presente em pequena quantidade ou ser inexistente em diversas formulações de detergentes comercializados.

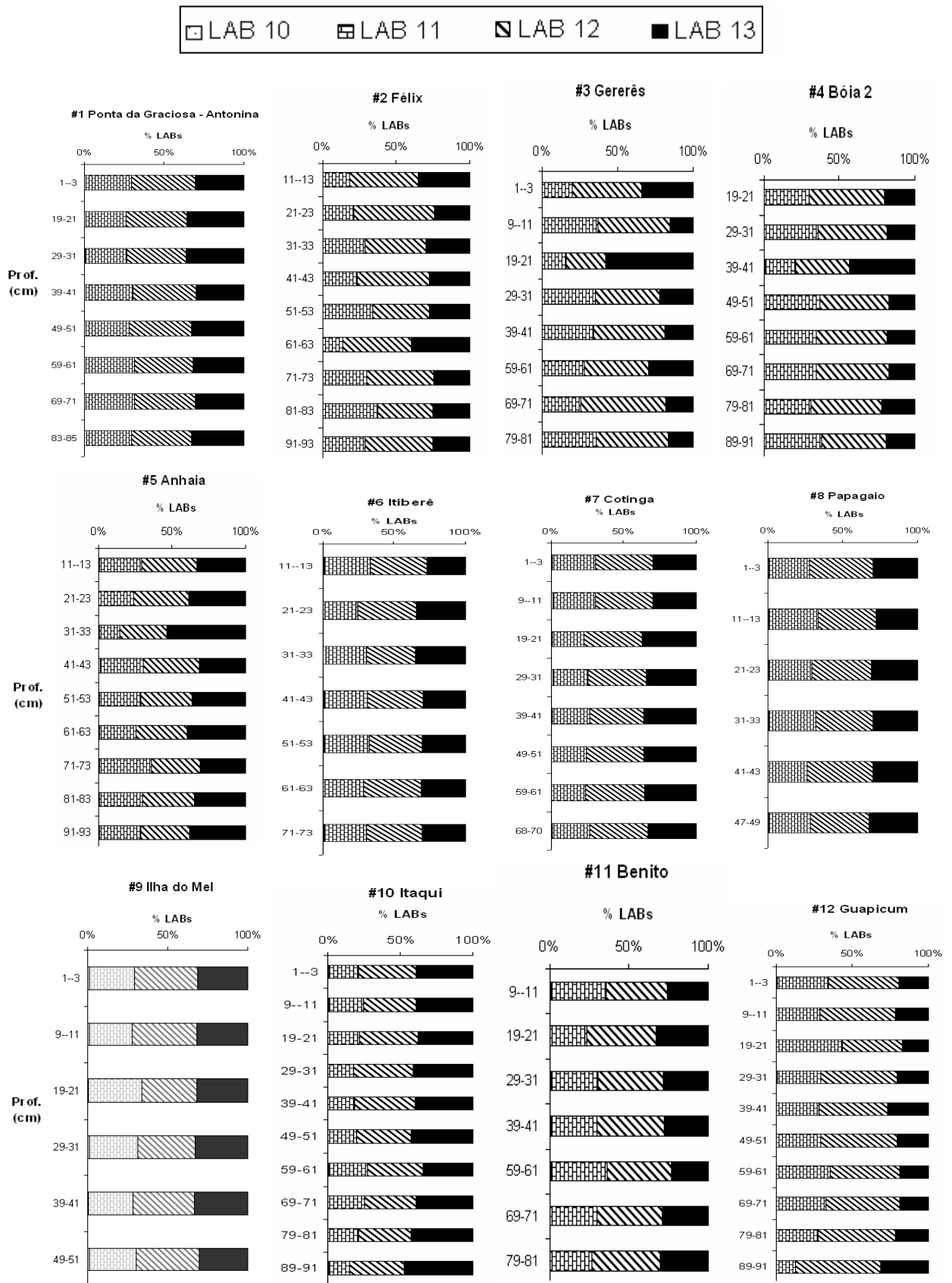


Figura 23 – Percentual relativo das séries homólogas dos LABs encontrados em cada camada sedimentar

De uma maneira geral, os LABs apresentaram um perfil crescente de concentração (da base até a superfície do testemunho) nas estações #2, #3, #7, #9, #10 e #12, enquanto que para os demais testemunhos, não se obteve uma tendência clara no aumento ou diminuição das concentrações dos LABs.

A maior concentração do total dos LABs, representado pelo somatório (Σ LABs – em ng g^{-1} peso seco) definido como $\Sigma C_{10}-C_{13}$ LABs (juntamente com os seus isômeros), foi encontrada na superfície de 1-3 cm em #3 Gererês (208 ng g^{-1}) e nas profundidades 39-41 cm em #1 Ponta da Graciosa-Antonina (197 ng g^{-1}) e 21-23 cm em #2 Félix (107 ng g^{-1}) (Figura 24). As estações citadas acima, #1 Ponta da Graciosa - Antonia, #2 Félix e #3 Gererês, situam-se na faixa leste-oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá, onde se tem maior influência antrópica (Lana *et al.*, 2001) e, provavelmente, esgotos estão sendo lançados nestes locais.

As menores concentrações encontradas em todo o perfil sedimentar ficaram registradas nos testemunhos coletados em #8 Papagaio, #10 Benito e #6 Itiberê, sendo que o testemunho #10 Benito encontra-se afastado dos centros urbanos e localiza-se no eixo norte-sul do Complexo Estuarino de Paranaguá, o que justifica os baixos valores encontrados. Já o testemunho #6 Itiberê encontra-se perto da cidade de Paranaguá, porém foram encontradas baixas concentrações de LABs em todo o perfil sedimentar, isso pode ter sido influenciado pela granulometria do local que é predominantemente areia e também pela baixa concentração de COT encontrado em suas camadas sedimentares, sendo que estes fatores podem estar associados com a baixa descarga alquilbenzenos lineares no local.

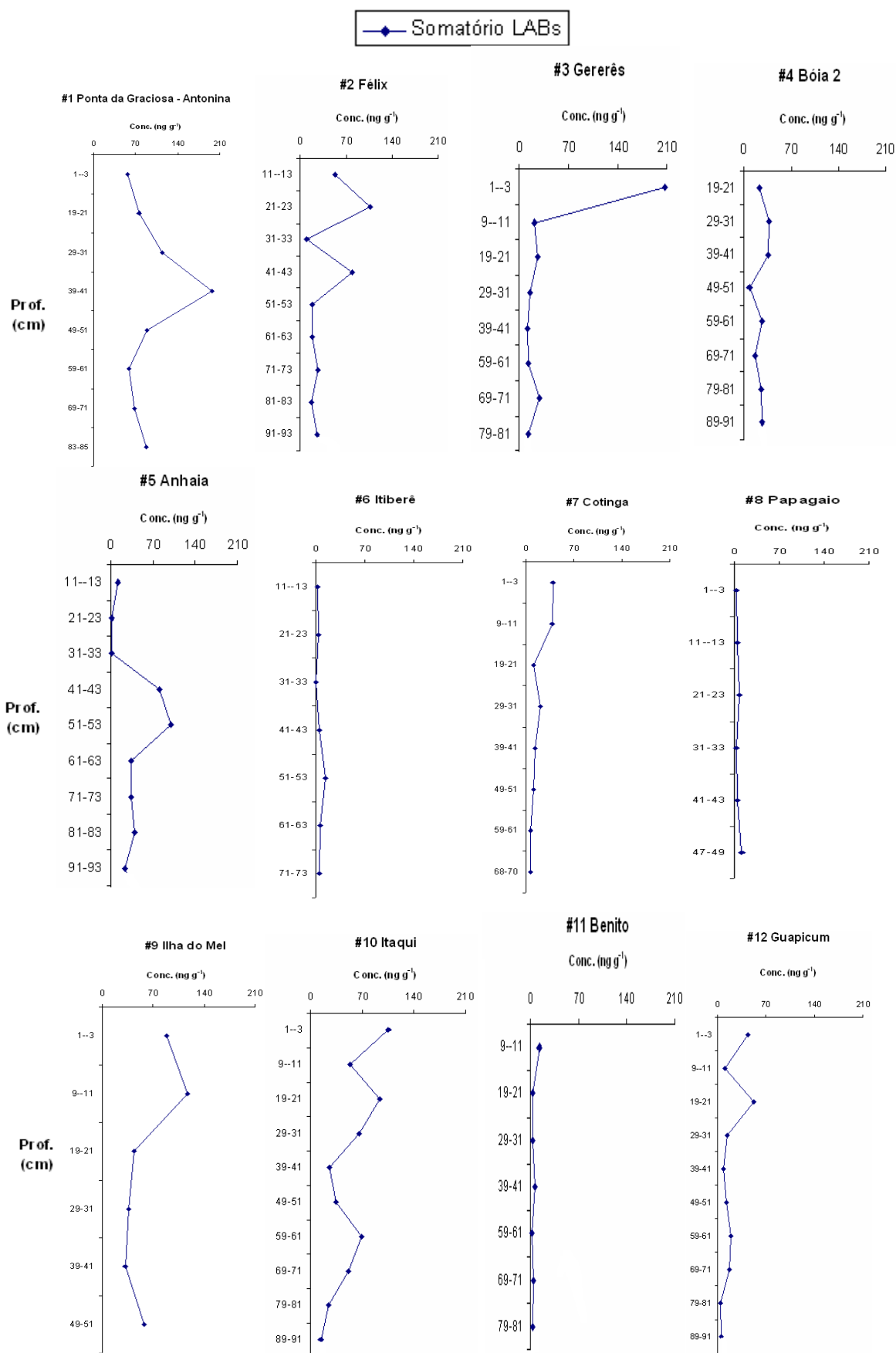


Figura 24- Concentração (ng g^{-1} peso seco) do somatório dos LABs (ΣLABs) por camada para os testemunhos do CEP

As concentrações máximas do Σ LABs ficaram em torno de 208 ng g⁻¹ no presente estudo e, quando comparados com valores encontrados em outras regiões, observa-se que a região em estudo apresenta de baixo a moderado impacto por este contaminante (Tabela 22). Estudo realizado no sudeste da Ásia apresentou valores superiores (42600 ng g⁻¹), tendo em vista que aquela região amostrada apresenta alta densidade demográfica, sendo bastante industrializada e abrigando portos, sendo considerada região com alto nível de contaminação por LABs (Takada *et al.*, 2004). Estudo realizado no sul da China, no Delta do Rio Pearl (Luo *et al.*, 2008), encontrou concentrações relativamente baixas, menores que 100 ng g⁻¹, no entanto teve alguns casos isolados que obtiveram altas concentrações, chegando a 2000 ng g⁻¹. No sul da Califórnia, Macías-Zamora & Ramírez-Alvarez (2004) analisaram o sedimento da região e encontraram concentrações de LABs relativamente baixas, quando comparadas com outras regiões, porém encontrou-se uma alta concentração de LABs (19100 ng g⁻¹), no entanto, segundo os autores, esta foi considerada como um *outlier* e não foi incluída nos cálculos. Preston & Raymundo (1992) estudaram sedimentos da região oeste do Mar do Norte e encontraram concentrações de LABs entre 2,5 e 2300 ng g⁻¹, sendo que o maior valor foi encontrado para uma região isolada, que segundo o estudo é mais contaminada que o restante do local amostrado. Já a região de San Diego na Califórnia, apresentou baixas concentrações (39,2 ng g⁻¹) para este grupo de contaminantes, sendo explicado pela foto-degradação e biodegradação destes contaminantes durante o transporte ocorrido entre o local do lançamento até regiões mais profundas e afastadas da fonte (Zeng *et al.*, 1997). No Brasil, estudos realizados em sedimentos coletados no estado de São Paulo, mostram que a região do estuário e baía de Santos apresentou uma concentração para Σ LABs de 430,6 ng g⁻¹ (Medeiros & Bicego, 2004a) e classificaram este local como uma região impactada, indicando uma importante contribuição de detergentes domésticos para aquela localidade. Já outro estudo realizado no mesmo estado, porém no canal de São Sebastião, foi encontrada baixa contaminação (27,7 ng g⁻¹) (Medeiros & Bicego, 2004b). Valores elevados foram também encontrados junto a efluentes no estuário da Lagoa dos Patos (482 – 1602 ng g⁻¹), porém regiões mais afastadas apresentaram valores reduzidos de LABs para a região (>35 ng g⁻¹) (Medeiros *et al.*, 2005).

A grande variação entre valores encontrados para este grupo de contaminantes no ambiente pode ser justificada pelo seu comportamento físico-químico. A sua interação com o ambiente ao qual está inserido, onde uma baixa salinidade e alta circulação são favoráveis ao transporte de partículas em suspensão. Este fenômeno de dispersão de partículas contendo estes contaminantes adsorvidos é uma das formas mais comuns de transporte no ambiente aquático. Já em ambientes com baixa circulação, essas partículas tendem a sedimentar, favorecendo o acúmulo dos LABs no sedimento até mesmo em áreas mais afastadas das fontes (Macías-Zamora & Ramírez-Alvarez, 2004).

Tabela 22: Concentrações do Σ LABs (ng g^{-1} peso seco) em sedimentos de diversas regiões

Local de Estudo	Σ LABs (ng g^{-1})	Diagnóstico	Referência
Sul e sudeste da Ásia	<2 – 42600	Altamente impactada	(Takada <i>et al.</i> , 2004)
Delta do Rio Pearl, Sul da China	2,5 – 2332,1	Baixo impacto, a maior concentração foi isolada	(Luo <i>et al.</i> , 2008)
Sul da Califórnia Bight	1,7 – 19100	Baixo impacto, a maior concentração foi isolada	(Macías-Zamora & Ramírez-Alvarez, 2004)
Estuários oeste do Mar do Norte: Wash, Thames e Humber	2,5 – 2300	Baixo a moderado impacto	(Raymundo & Preston, 1992)
San Diego, Califórnia	1,61 – 39,2	Baixo impacto	(Zeng <i>et al.</i> , 1997)
Estuário da Lagoa dos Patos – RS, Brasil	3,2 – 1602	Impactado	(Medeiros <i>et al.</i> , 2005)
Estuário de baía de Santos - SP, Brasil	16,9 – 430,6	Impactado	(Medeiros & Bicego, 2004a)
Canal de São Sebastião – SP, Brasil	12,6 – 27,7	Baixo impacto	(Medeiros & Bicego, 2004b)
Complexo Estuarino de Paranaguá, Brasil	3,03 – 208	Baixo a moderado impacto	Presente estudo

A Figura 25 mostra as séries homólogas dos LABs, onde aparecem os alquilbenzenos lineares com 10, 11, 12 e 13 átomos de carbono na cadeia alquílica. As concentrações mais elevadas que foram encontradas de cada uma das séries homólogas dos LABs foram observadas, respectivamente, nos testemunhos #3 Gererês (95 ng g^{-1} na profundidade 1-3 cm), #1 Ponta da Graciosa – Antonina (77 ng g^{-1} na profundidade 39-41 cm) e #2 Félix (59 ng g^{-1} na profundidade 21-23 cm), sendo todos estes referentes ao LAB com 12 átomos de carbono na cadeia alquílica, e localizadas próximas a centros urbanos. Já os que apresentaram baixas concentrações em todo perfil sedimentar foram os testemunhos #8 Papagaio, #11

Benito e #6 Itiberê, tendo um valor máximo encontrado de 4 ng g⁻¹ (47-49 cm), 5 ng g⁻¹ (9-11 cm) e 5 ng g⁻¹ (51-53 cm), respectivamente. Para todos os testemunhos foi observado granulometria com maior proporção de areia, baixo %COT para os testemunhos #6 e #8, significando que o acúmulo no sedimento não é a rota preferencial para os compostos orgânicos nesta região.

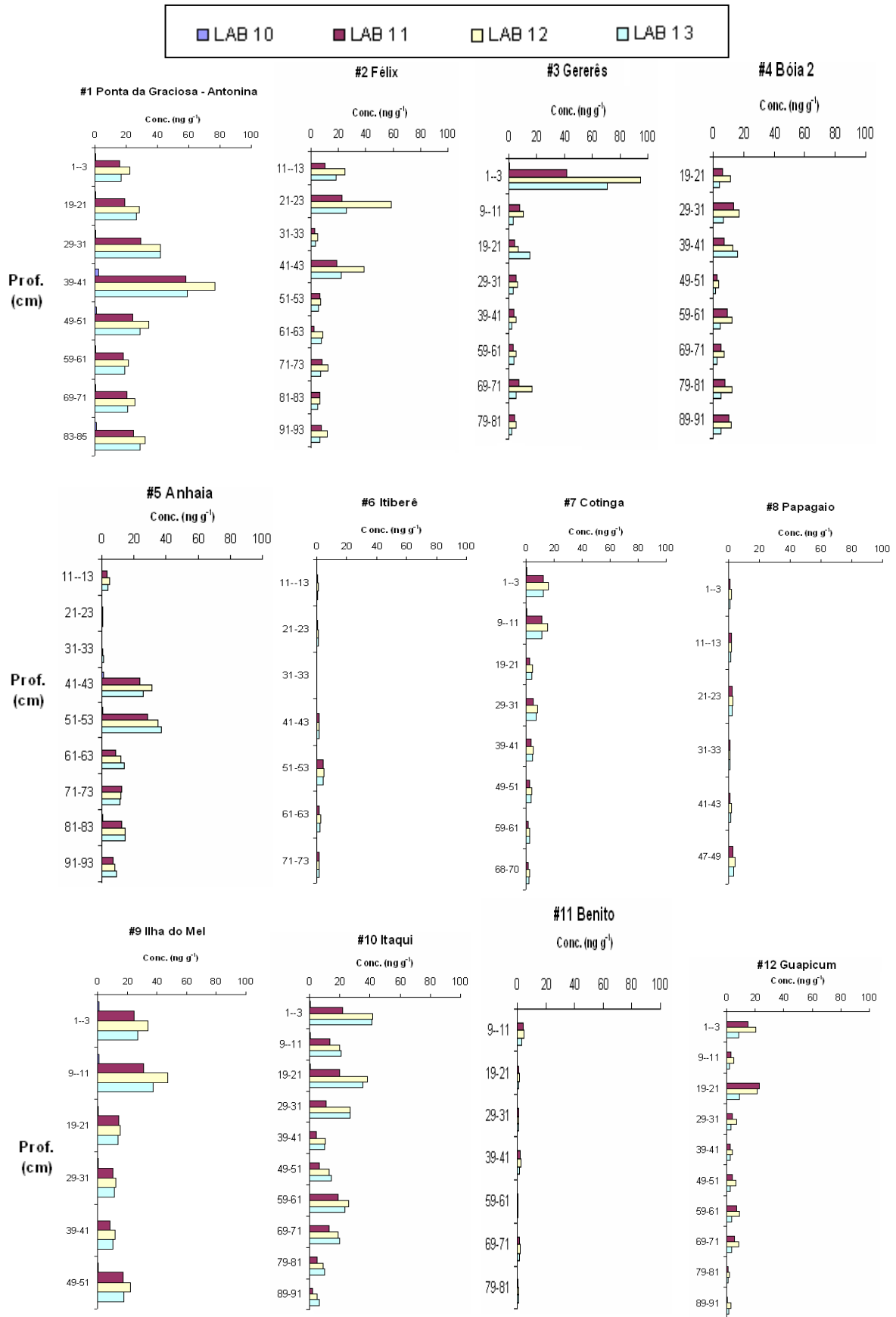


Figura 25 – Concentração (ng g^{-1} peso seco) de cada série homóloga de LAB por camada sedimentar

Calculou-se um indicador quantitativo da degradação dos LABs, que se dá pela razão entre os isômeros internos (I) e externos (E) para o homólogo C₁₂ (Raymundo & Preston, 1992). Valores maiores que 1 indicam alto grau de degradação (Takada & Eganhouse, 1998), entre 3-5 indicam lançamento de efluentes que tiveram algum tipo de tratamento, já valores inferiores e próximos a 1, indicam intenso e inadequado lançamento de efluentes não tratados ao ambiente (Takada *et al.*, 2004; Medeiros & Bicego, 2004a). No entanto essa razão tem que estar relacionada à concentração do Σ LABs encontrada em cada camada analisada dos testemunhos, ou seja, não pode ser vista e estudada isoladamente.

A quase totalidade das camadas dos testemunhos apresentaram valores acima de 1 (Tabela 23), indicando alta degradação. Isso pode ser explicado pela ausência do homólogo C₁₄, que possui uma velocidade maior de degradação que os outros homólogos (Luo *et al.*, 2008), e as baixas concentrações encontradas para o homólogo C₁₀. A predominância da razão I/E maior que 1 ocorreu também em trabalhos realizados no sul da Ásia (Takada *et al.*, 2004), para sedimentos em San Diego (Califórnia) (Zeng *et al.*, 1997) e sedimentos estuarinos e costeiros do Mar do Norte (Raymundo & Preston, 1992).

A razão I/E variou entre 0,32 (#12 Guapicum 89-91 cm) e 3,40 (#11 Benito 59-61 cm), sendo que estes dois pontos localizam-se no eixo norte-sul do Complexo Estuarino de Paraguá. Os valores desta razão e, conseqüentemente, o percentual de degradação não seguiram um perfil relacionado com a profundidade dos testemunhos, tendo um comportamento diferente em cada caso.

Tabela 23: Concentração (ng g⁻¹ peso seco) dos Σ LABs, índice I/E e o percentual de degradação (% Deg) em cada profundidade dos locais amostrados

Testemunho	Σ LABs	I/E	% Deg	Testemunho	Σ LABs	I/E	% Deg
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 1-3 cm	56,15	2,19	42,50	#5 Anhaia 71-73 cm	34,54	1,99	39,24
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 19-21 cm	74,98	2,06	40,45	#5 Anhaia 81-83 cm	41,09	2,35	45,02
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 29-31 cm	113,97	2,30	44,25	#5 Anhaia 91-93 cm	23,56	1,94	38,39
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 39-41 cm	196,82	2,20	42,72	#6 Itiberê 11-13 cm	2,36	3,37	57,71
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 49-51 cm	89,07	2,12	41,44	#6 Itiberê 21-23 cm	3,27	2,73	50,35
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 59-61 cm	58,97	2,03	39,93	#6 Itiberê 31-33 cm	0,18	1,19	21,17
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 69-71 cm	67,89	2,17	42,32	#6 Itiberê 41-43 cm	4,68	3,01	53,74
#1 Ponta da Graciosa - Antonina 83-85 cm	87,10	1,97	38,86	#6 Itiberê 51-53 cm	14,05	2,45	46,58
#2 Félix 11-13 cm	52,96	2,89	52,31	#6 Itiberê 61-63 cm	6,58	2,81	51,39
#2 Félix 21-23 cm	107,41	0,50	NC	#6 Itiberê 71-73 cm	4,80	2,69	49,75
#2 Félix 31-33 cm	10,24	1,91	37,83	#7 Cotinga 1-3 cm	40,08	1,43	27,58
#2 Félix 41-43 cm	79,53	0,45	NC	#7 Cotinga 9-11 cm	38,03	1,49	29,04
#2 Félix 51-53 cm	17,22	0,60	NC	#7 Cotinga 19-21 cm	11,57	0,97	14,07
#2 Félix 61-63 cm	17,96	1,76	34,85	#7 Cotinga 29-31 cm	21,31	1,32	24,71
#2 Félix 71-73 cm	26,22	0,63	NC	#7 Cotinga 39-41 cm	13,73	1,99	39,16
#2 Félix 81-83 cm	16,68	0,57	NC	#7 Cotinga 49-51 cm	10,85	1,63	32,21
#2 Félix 91-93 cm	24,86	0,67	0,99	#7 Cotinga 59-61 cm	6,90	1,88	37,24
#3 Gererês 1-3 cm	207,95	2,08	40,72	#7 Cotinga 68-70 cm	6,50	1,37	26,15
#3 Gererês 9-11 cm	21,36	1,62	32,04	#8 Papagaio 1-3 cm	3,94	2,89	52,35
#3 Gererês 19-21 cm	26,13	0,67	0,70	#8 Papagaio 11-13 cm	5,26	2,50	47,22
#3 Gererês 29-31 cm	14,82	0,70	2,70	#8 Papagaio 21-23 cm	7,61	2,43	46,26
#3 Gererês 39-41 cm	11,48	0,63	NC	#8 Papagaio 31-33 cm	2,89	3,04	54,15
#3 Gererês 59-61 cm	12,51	0,59	NC	#8 Papagaio 41-43 cm	4,02	1,94	38,38
#3 Gererês 69-71 cm	29,08	1,45	28,06	#8 Papagaio 47-49 cm	10,52	2,32	44,61
#3 Gererês 79-81 cm	11,88	0,63	NC	#9 Ilha do Mel 1-3 cm	87,60	1,77	35,11
#4 Bóia 2 19-21 cm	21,90	0,60	NC	#9 Ilha do Mel 9-11 cm	117,32	1,91	37,76
#4 Bóia 2 29-31 cm	37,44	0,53	NC	#9 Ilha do Mel 19-21 cm	43,35	2,15	41,96
#4 Bóia 2 39-41 cm	36,10	1,55	30,33	#9 Ilha do Mel 29-31 cm	35,36	1,86	36,91
#4 Bóia 2 49-51 cm	7,90	0,57	NC	#9 Ilha do Mel 39-41 cm	31,48	1,85	36,65
#4 Bóia 2 59-61 cm	26,26	0,62	NC	#9 Ilha do Mel 49-51 cm	57,32	2,40	45,79
#4 Bóia 2 69-71 cm	15,39	0,54	NC	#10 Itaqui 1-3 cm	105,93	1,85	36,58
#4 Bóia 2 79-81 cm	25,30	0,56	NC	#10 Itaqui 9-11 cm	54,02	1,88	37,25
#4 Bóia 2 89-91 cm	26,86	0,58	NC	#10 Itaqui 19-21 cm	93,59	2,03	39,85
#5 Anhaia 11-13 cm	11,89	1,87	36,98	#10 Itaqui 29-31 cm	65,89	1,92	37,89
#5 Anhaia 21-23 cm	1,67	2,62	48,86	#10 Itaqui 39-41 cm	25,39	1,70	33,65
#5 Anhaia 31-33 cm	1,61	2,57	48,17	#10 Itaqui 49-51 cm	34,11	1,67	32,96
#5 Anhaia 41-43 cm	81,30	2,10	41,02	#10 Itaqui 59-61 cm	68,32	1,84	36,36
#5 Anhaia 51-53 cm	100,60	2,45	46,46	#10 Itaqui 69-71 cm	51,44	1,85	36,65
#5 Anhaia 61-63 cm	34,00	2,33	44,72	#10 Itaqui 79-81 cm	24,38	2,09	40,98

Tabela 23 (continuação): Concentração (ng g⁻¹ peso seco) dos Σ LABs, índice I/E e o percentual de degradação (% Deg) em cada profundidade dos locais amostrados

Testemunho	Σ LABs	I/E	% Deg	Testemunho	Σ LABs	I/E	% Deg
#10 Itaqui 89-91 cm	13,93	1,76	34,89	#12 Guapicum 1-3 cm	44,0	0,73	3,96
#11 Benito 9-11 cm	12,63	2,54	47,86	#12 Guapicum 9-11 cm	10,4	0,68	1,27
#11 Benito 19-21 cm	3,50	2,76	50,66	#12 Guapicum 19-21 cm	53,0	0,75	4,77
#11 Benito 29-31 cm	3,10	2,82	51,47	#12 Guapicum 29-31 cm	14,4	0,62	NC
#11 Benito 39-41 cm	6,39	3,09	54,64	#12 Guapicum 39-41 cm	9,0	0,98	14,45
#11 Benito 59-61 cm	1,85	3,40	58,00	#12 Guapicum 49-51 cm	13,1	0,63	NC
#11 Benito 69-71 cm	4,68	2,82	51,44	#12 Guapicum 59-61 cm	20,0	0,50	NC
#11 Benito 79-81 cm	2,92	3,09	54,66	#12 Guapicum 69-71 cm	18,0	0,67	0,81
#11 Benito 99-101 cm	4,54	3,16	55,44	#12 Guapicum 79-81 cm	4,3	0,52	NC
				#12 Guapicum 89-91 cm	5,2	0,32	NC

NC: Não Calculado

I/E: $(6-C_{12}+5-C_{12})/(4-C_{12}+3-C_{12}+2-C_{12})$

% Deg: $\log(I/E) \cdot 81 + 15$

Nos testemunhos #1 Ponta da Graciosa-Antonina, #5 Anhaia, #6 Itiberê, #7 Cotinga, #8 Papagaio, #9 Ilha do Mel, #10 Itaqui e #11 Benito a razão I/E foi superior a 1 para todas as profundidades, indicando que houve alto grau de degradação. Os testemunhos #1, #5, #6, #7, #8, #9 foram coletados no eixo leste-oeste, onde existe maior aporte antrópico por parte das cidades Antonina e Paranaguá, local turístico (Ilha do Mel) e pela navegação (portos), enquanto que os testemunhos #10 e #11 localizam-se no eixo norte-sul do CEP, afastado dos centros mais urbanizados. Porém a razão I/E tem que estar relacionada com as concentrações dos LABs encontradas, ou seja, para razões maiores que 1 e altas concentrações de LABs encontradas, indica que o ambiente em questão está recebendo efluente sem tratamento, sendo que este fato pode ser observado através dos testemunhos coletados no eixo leste-oeste (#1, #5 e #9) e um coletado no eixo norte-sul (#10).

Valores menores que 1 para a razão I/E, no qual predominam os isômeros externos, foram encontrados praticamente em todo testemunho #12 Guapicum indicando que esta é uma deposição que não está degradada. Este testemunho encontra-se afastado das cidades de Paranaguá e Antonina, ou seja, não é influenciado diretamente pelo despejo dos centros urbanos, sendo que estes baixos valores para esta razão podem indicar deposição recente.

Em algumas camadas dos outros tesemunhos analisados também foi encontrado valores inferiores a 1, o que pode ser justificado pela constante emissão destes contaminantes carregados por esgotos domésticos localizados em emissários

nos arredores do local de coleta. Visto que, o Complexo Estuarino de Paranaguá comporta cinco principais municípios, totalizando 190000 pessoas, as quais vivem basicamente da pesca, comércio, turismo e atividades portuárias (IBGE, 2007), sendo que 96%, aproximadamente, residem em área urbana com uma rede de coleta e tratamento de esgoto inexistente ou insuficiente (em torno de 15%). Dessa forma, o esgoto sanitário *in natura* é lançado inapropriadamente nos rios e canais (ex. rios Itiberê e Emboguaçu e canal Anhaia) ou diretamente nas baías de Paranaguá e de Antonina, por meio de 4163 ligações diretas (FUNPAR., 2006). Estudo realizado por Kolm *et al.* (2002) demonstra a presença de um grande número de coliformes fecais em frente ao Porto de Paranaguá, sendo este um claro indicativo da contaminação por esgotos domésticos, que carregam os LABs.

4.6. Esteróides

As distribuições para cada esteróide analisado nas camadas sedimentares dos testemunhos estão ilustradas a seguir nas Figuras 26-37.

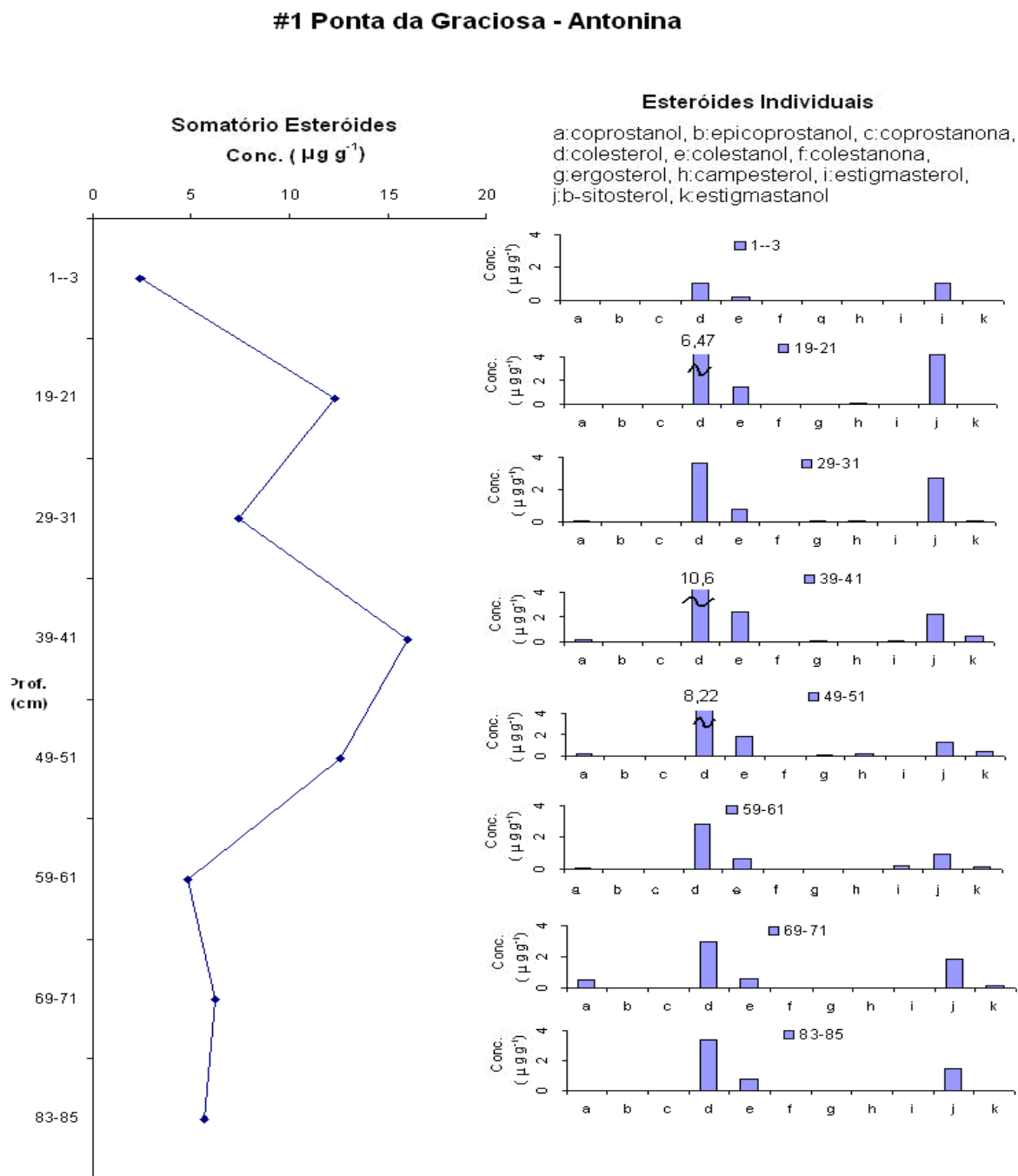


Figura 26 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #1 Ponta da Graciosa - Antonina, onde a: coprostanol, b: epicoprostanol, c: coprostanona, d: colesterol, e: colestanol, f: colestanona, g: ergosterol, h: campesterol, i: estigmasterol, j: β -sitosterol e k: estigmastanol

#2 Félix

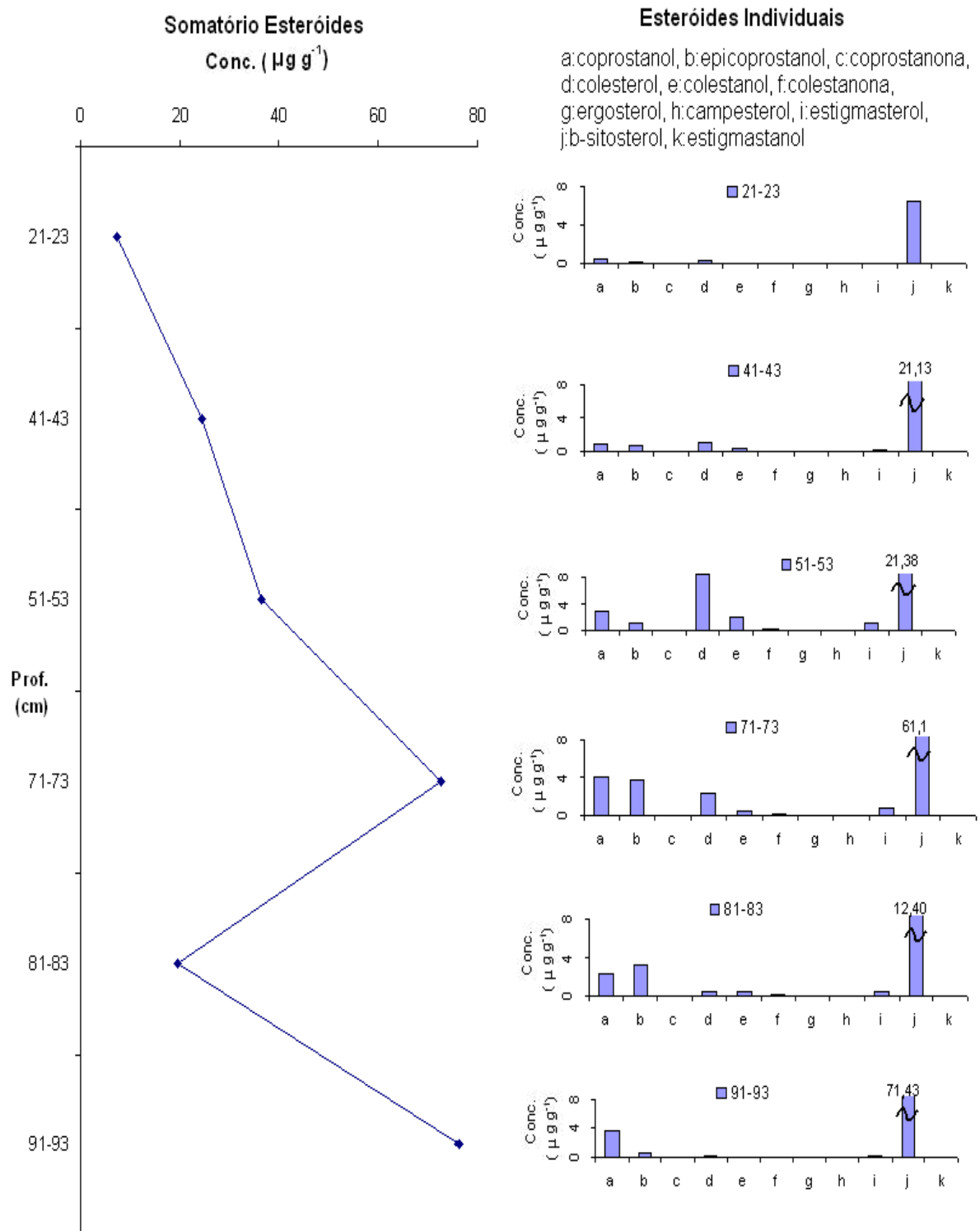


Figura 27 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #2 Félix, onde a:coprostanol, b:epicoprostanol, c:coprostanona, d:colesterol, e:colestanol, f:colestanona, g:ergosterol, h:campesterol, i:estigmasterol, j: β -sitosterol e k:estigmastanol

#5 Anhaia

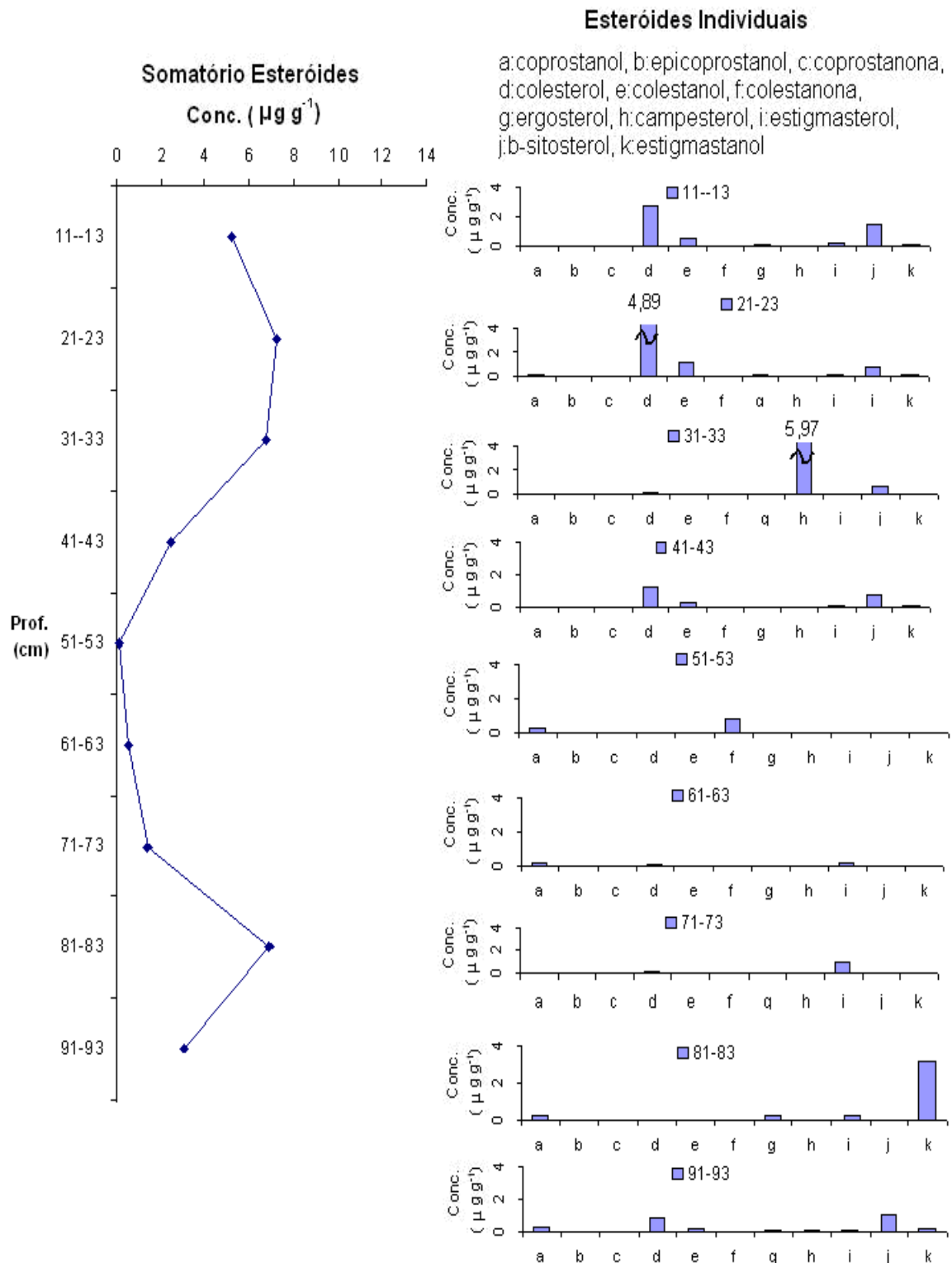


Figura 30 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #5 Anhaia, onde a: coprostanol, b: epicoprostanol, c: coprostanona, d: colesterol, e: colestanol, f: colestanona, g: ergosterol, h: campesterol, i: estigmasterol, j: β -sitosterol e k: estigmastanol

#6 Itiberê

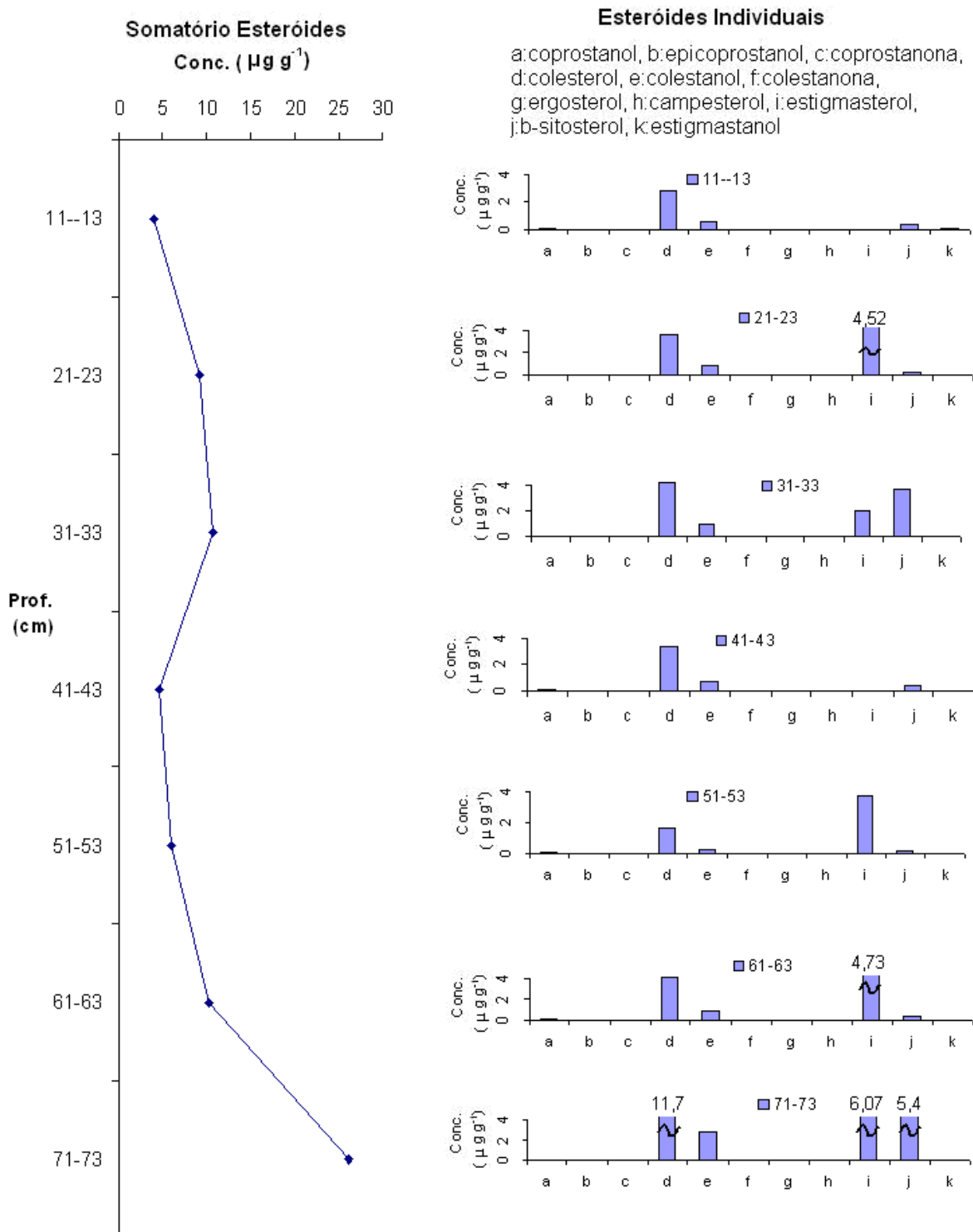


Figura 31 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #6 Itiberê, onde a: coprostanol, b: epicoprostanol, c: coprostanona, d: colesterol, e: colestanol, f: colestanona, g: ergosterol, h: campesterol, i: estigmasterol, j: β -sitosterol e k: estigmastanol

#7 Cotinga

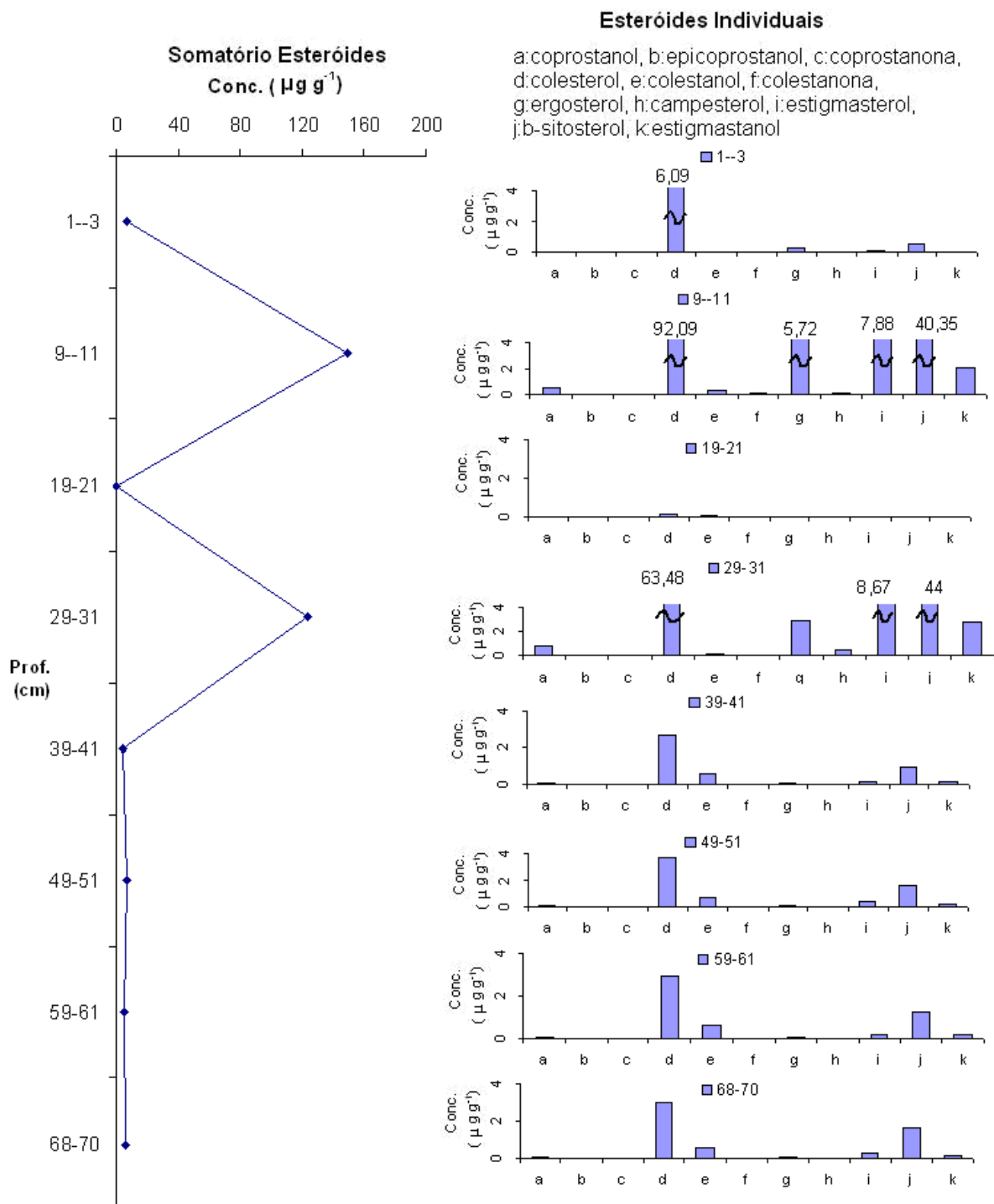


Figura 32 - Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróides totais e distribuição individual em cada camada sedimentar analisada do testemunho #7 Cotinga, onde a: coprostanol, b: epicoprostanol, c: coprostanona, d: colesterol, e: colestanol, f: colestanona, g: ergosterol, h: campesterol, i: estigmasterol, j: β -sitosterol e k: estigmastanol

Os maiores valores encontrados para os esteróides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) que compreende o somatório dos esteróides analisados (coprostanol, epicoprostanol, coprostanona, colesterol, colestanol, colestanona, ergosterol, campesterol, estigmasterol, β -sitosterol e estigmastanol) foram de $207 \mu\text{g g}^{-1}$ em #11 Benito (69-71 cm) (Figura 36), $150 \mu\text{g g}^{-1}$ em #7 Cotinga (9-11 cm) (Figura 32) e $76,3 \mu\text{g g}^{-1}$ em #2 Félix (91-93 cm) (Figura 27), $67,0 \mu\text{g g}^{-1}$ em #10 Itaqui (1-3 cm) (Figura 35), estando os testemunhos #7 Cotinga e #2 Félix localizados no eixo leste-oeste e #11 Benito e #10 Itaqui na região norte do CEP.

Já para os valores de esteróis totais (OLs totais – não inclui os compostos coprostanona e colestanona, por se tratarem de estanonas) (Tabela 26) foram encontradas concentrações que variaram entre $0,14 \mu\text{g g}^{-1}$ em #5 Anhaia (51-53 cm) (Figura 30) e $207 \mu\text{g g}^{-1}$ em #11 Benito (69-71 cm), sendo este valor máximo encontrado em um dos pontos considerados Controle no presente estudo, este fato pode ser explicado pelos altos valores de esteróis de origem natural e também nesta profundidade o %COT (1,5%) apresenta uma correlação positiva com os indicadores de contaminação orgânica, podendo ter influenciado no acúmulo destes. As baixas concentrações foram encontradas em todo perfil do testemunho #5 Anhaia, apesar deste estar localizado perto da cidade de Paranaguá, sendo que na profundidade onde foi encontrada a menor concentração, o valor para o %COT foi igual a 0,26%, justificando o baixo acúmulo dos esteróis. Outra justificativa para as baixas concentrações de esteróis encontrados em #5 Anhaia, quando comparado ao estudo anterior para sedimentos superficiais nesta mesma região (Braun, 2006), está na localização de coleta do testemunho que foi bastante afastado da desembocadura do rio numa região de possível deposição de resíduos de dragagem, enquanto que o local de coleta do estudo anterior foi próximo aos emissários de esgoto. Talvez, por esta razão, a composição dos sedimentos tenha sido predominantemente arenosa.

O colesterol é um esteroide abundante em sedimentos e material particulado em suspensão de ambientes aquáticos (Volkman, 1986) e no presente trabalho foi encontrado em maiores concentrações, estando presente em todas as camadas dos testemunhos analisados. Foram encontradas altas concentrações nas regiões consideradas como pontos Controle, chegando a $50,1 \mu\text{g g}^{-1}$ em #10 Itaqui (1-3 cm), justificando este acúmulo pela presença de 98% de sedimentos finos e a $191,0 \mu\text{g g}^{-1}$ em #11 Benito (69-71 cm), que nesta profundidade apresentou o maior percentual

de sedimentos finos (45%). Este é um esterol está associado a fontes naturais de matéria orgânica de origem marinha ou terrígena (Martins *et al.*, 2008).

Em geral, as amostras dos testemunhos apresentaram uma predominância de esteróis de origem natural, dentre eles o β -sitosterol, estigmasterol, colestanol e o estigmastanol (Volkman, 1986) sendo os que se obteve destaque foram, principalmente nas regiões da #2 Félix (91-93 cm) com $71,4 \mu\text{g g}^{-1}$ de β -sitosterol, #7 Cotinga (29-31 cm) com $8,7 \mu\text{g g}^{-1}$ de estigmasterol, #12 Guapicum (29-31 cm) com $3,6 \mu\text{g g}^{-1}$ de colestanol (Figura 37) e #7 Cotinga (29-31 cm) com $2,8 \mu\text{g g}^{-1}$ de estigmastanol.

Já para o coprostanol, estudo realizado em sedimentos superficiais para esta mesma região (CEP) encontrou valor máximo deste esterol de 2000 ng g^{-1} ($2 \mu\text{g g}^{-1}$) (Braun, 2006), enquanto que o presente estudo mostrou valores superiores ($4,10 \mu\text{g g}^{-1}$) (Tabela 24). Braun (2006) encontrou a maior concentração de coprostanol junto a desembocadura do rio Anhaia (perto do testemunho #5 Anhaia), porém no presente estudo valores deste contaminante na superfície, para perto desta localidade, foram inferiores chegando a máxima concentração de $0,03 \mu\text{g g}^{-1}$ (11-13 cm).

A presença de coprostanol, epicoprostanol e coprostanona, que são esteróides marcadores de contaminação fecal, foi detectada em todos os testemunhos amostrados do CEP. Para o esterol coprostanol, foi encontrado no testemunho #2 Félix concentrações entre $0,4$ e $4,1 \mu\text{g g}^{-1}$ (21-23 cm e 71-73 cm, respectivamente), sendo que esta maior concentração foi a mais alta dentre todas as camadas sedimentares analisadas para os 12 testemunhos. Todos os testemunhos coletados no CEP apresentaram em alguma profundidade uma concentração maior que $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$, exceto em #9 Ilha do Mel que obteve a maior concentração de $0,06 \mu\text{g g}^{-1}$ (19-21 cm) (Figura 34), onde o %areia chegou a 90%, o que não favorece o acúmulo de contaminantes orgânicos. De acordo com Grimalt *et al.* (1990), concentrações acima de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ indicam que o local está contaminado por esgotos domésticos.

As concentrações mais elevadas de coprostanona (origem associada a fezes humanas) foram $3,6 \mu\text{g g}^{-1}$ em #2 Félix (71-73 cm), $0,9 \mu\text{g g}^{-1}$ em #4 Bóia 2 (49-51 cm), $0,8 \mu\text{g g}^{-1}$ em #12 Guapicum (1-3 cm), $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ em #3 Gererês (29-31 cm) (Figura 28), sendo que somente o testemunho #12 Guapicum encontra-se no eixo norte do CEP, entretanto este esteróide estando presente apenas na camada

superficial pode indicar aporte recente transportado até o local pelas correntes oceânicas que atuam na região, enquanto que os outros testemunhos encontram-se no eixo leste-oeste, no qual possui a presença de áreas urbanizadas. Já para o epicoprostanol, as concentrações encontradas foram relativamente baixas em relação aos outros esteróides fecais, sendo a maior concentração encontrada de $0,2 \mu\text{g g}^{-1}$ para #4 Bóia 2 (29-31 cm). Este esterol não está presente de forma significativa nas fezes humanas, porém pode surgir a partir de processos de digestão aeróbica de lodos de estações de tratamento de esgotos (Grimalt *et al.*, 1990).

Em estudos realizados em alguns locais do Brasil, correlacionando concentrações de coprostanol, pode-se observar que na baía de Ubatuba (São Paulo) foram encontradas concentrações que variaram entre $0,03$ e $0,27 \mu\text{g g}^{-1}$ em sedimentos superficiais (Muniz *et al.*, 2006), sendo que estes valores encontram-se abaixo do que é considerado como local contaminado (valores acima de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$) (Grimalt *et al.*, 1990). Em estudo realizado na Lagoa dos Patos (Rio Grande do Sul) (Martins *et al.*, 2007), também referente a sedimentos superficiais, foi encontrado valores entre $0,001$ e $1,42 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo que este ponto onde apareceu uma concentração mais elevada, foi coletado próximo a cidade de Porto Alegre (capital do Rio Grande do Sul). Já estudos feitos na baía de Santos (São Paulo) (Martins *et al.*, 2008), em sedimentos superficiais, encontrou-se valores entre $0,04$ a $8,51 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo que a maior concentração foi encontrada em um ponto coletado imediatamente na desembocadura do emissário submarino de Santos. Na baía de Guanabara (Rio de Janeiro) (Carreira *et al.*, 2004), foram coletados testemunhos sedimentares e encontrou-se valores chegando a $40,0 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo que este valor se refere a uma região altamente impactada. Para o Complexo Estuarino de Paranaguá – (CEP - Paraná), área de estudo do presente trabalho, foi realizado um estudo prévio em sedimentos superficiais, onde a maior concentração de coprostanol encontrada foi de $2,22 \mu\text{g g}^{-1}$ (Braun, 2006). Já, no presente trabalho, as coletas foram realizadas a partir de testemunhos sedimentares, sendo que a maior concentração encontrada foi de $4,10 \mu\text{g g}^{-1}$ no testemunho #2 Félix (Tabela 24).

Tabela 24: Comparação da concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) de coprostanol dentre alguns estudos

Local do estudo	Coprostanol ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Referência
Baía de Guanabara (Rio de Janeiro) ^b	0,01 a 40,0	(Carreira <i>et al.</i> , 2004)
Complexo Estuarino de Paranaguá (Paraná) ^a	0,002 a 2,22	(Braun, 2006)
Baía de Ubatuba (São Paulo) ^a	0,03 a 0,27	(Muniz <i>et al.</i> , 2006)
Lagoa dos Patos (Rio Grande do Sul) ^a	LD (0,001) a 1,42	(Martins <i>et al.</i> , 2007)
Baía de Santos (São Paulo) ^a	0,04 a 8,51	(Martins <i>et al.</i> , 2008)
Complexo Estuarino de Paranaguá (Paraná) ^b	0,001 a 4,10	Presente estudo

^aSedimentos superficiais^bTestemunhos sedimentares

LD: Limite de Detecção

Para melhor avaliar a introdução dos efluentes domésticos, algumas razões entre os esteróides são propostas para facilitar a identificação da contaminação da região estudada (Tabela 25). As razões $\frac{5\beta/(5\beta+5\alpha)\text{colestano-3}\beta\text{-ol}}{(\text{coprostanol/coprostanol} + \text{colestano})}$ e $\frac{5\beta/(5\beta+5\alpha)\text{colestano-3-on}}{(\text{coprostanona/coprostanona} + \text{colestano})}$ comparam níveis de concentrações entre coprostanol e colestano e entre coprostanona e colestano, sendo que para valores acima que 0,7 é um indício que há contaminação por esgoto (Grimalt *et al.*, 1990). Valores elevados ($> 0,7$) referente ao coprostanol/coprostanol+colestano, foram encontradas para os testemunhos #2 Félix (exceto a profundidade de 51-53 cm), #4 Bóia 2 (apenas 29-71 cm) e #5 Anhaia (31-33 cm, 61-63 cm) (Tabela 26), indicando que nestas profundidades houve aporte por esgoto fecal. Este fato se deve possivelmente a estes locais se localizarem perto de área urbanizada e próximos a desembocadura de rios, os quais drenam áreas urbanas e recebem efluentes, que muitas vezes não tem tratamento adequado. Comparando as duas razões (esteróis e estanonas) percebe-se que não houve concordância entre os resultados encontrados, isso pode ser por causa dos baixos valores de colestano encontrados no presente trabalho, tornando a razão de estanonas (coprostanona/coprostanona+colestano) pouco significativa para avaliar o nível de contaminação neste estudo.

Outras duas razões $\frac{(\text{coprostanol/colesterol} + \% \text{coprostanol} + \text{epicoprostanol})}{\text{esteróis totais}}$ foram avaliadas indicando também aportes fecais para as regiões citadas acima, enquanto que para os testemunhos #1 Ponta da Graciosa - Antonina, #6 Itiberê, #9 Ilha do Mel, #10 Itaquí, #11 Benito e #12 Guapicum houve predomínio de aportes biogênicos (Tabela 26).

Tabela 25: Razões utilizadas para avaliação de aporte antropogênico na região do CEP

Relação	Valores	Fonte
5 β /(5 β +5 α)colestano-3 β -ol	< 0,3 – aporte natural	(Grimalt <i>et al.</i> , 1990)
	Entre 0,3 e 0,7- moderadamente impactado	
	> 0,7 – aporte fecal	
5 β /(5 β +5 α)colestano-3-onas	< 0,7- não impactado	(Grimalt <i>et al.</i> , 1990)
	> 0,7 – moderadamente impactado	
% Cop.+e-cop./OLs totais	> 50% - aporte fecal	(Venkatesan & Santiago, 1989)
Cop./colesterol	> 1 – aporte fecal	(Takada <i>et al.</i> , 2004)

Cop – coprostanol; OLs totais – esteróis totais; 5 β /(5 β +5 α)colestano-3 β -ol – coprostanol/(coprostanol + colestano)

Takada *et al.* (2004) utilizaram o colesterol para avaliar a contaminação por esgoto com a razão da concentração do coprostanol pelo colesterol, pois essa é uma ferramenta de avaliação da origem da contaminação fecal (Martins *et al.*, 2008). Quando o resultado da razão coprostanol/colesterol é >1, caracteriza que o local está contaminado, porém tem-se que levar em conta o valor da concentração de coprostanol. Dessa forma foi possível verificar novamente a presença de contaminação por esgotos nos pontos #2 Félix, #3 Gererês, #4 Bóia 2 e #5 Anhaia (Tabela 26).

O crescente desenvolvimento comercial e industrial da região e também pela crescente urbanização principalmente nas 3 últimas décadas no entorno das cidades de Paranguá e Ilha do Mel, mostraram pequeno e pouco significativo aumento destes compostos nas camadas próximas ao topo dos testemunhos #7 Cotinga, #8 Papagaio, #9 Ilha do Mel e #11 Benito.

Tabela 26: Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos esteróis totais (OLs totais) e principais razões de esteróides em cada profundidade dos locais amostrados

Testemunho	OLs. Totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestano-3 β -ol	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestano-3-ona	Cop. colesterol	$\frac{(\% \text{cop.} + \text{e-cop.})}{\text{OLs. Totais}}$	$\frac{\% \text{colesterol}}{\text{OLs. totais}}$
#1 Antonina 1-3 cm	1,41	0,04	0,94	0,01	1,36	45,01
#1 Antonina 19-21 cm	8,10	0,01	0,93	0,00	0,40	52,82
#1 Antonina 29-31 cm	5,00	0,06	0,87	0,01	1,27	48,83
#1 Antonina 39-41 cm	16,00	0,07	0,72	0,02	1,11	66,21
#1 Antonina 49-51 cm	12,53	0,09	0,81	0,02	1,52	65,63
#1 Antonina 59-61cm	4,85	0,09	0,77	0,02	1,42	57,51
#1 Antonina 69-71 cm	6,16	0,46	0,73	0,18	8,78	47,66
#1 Antonina 83-85 cm	4,39	0,04	0,86	0,01	0,89	59,94
#2 Félix 21-23 cm	7,25	0,96	0,20	1,40	7,45	4,12
#2 Félix 41-43 cm	24,25	0,74	0,26	0,85	6,66	4,21
#2 Félix 51-53 cm	36,14	0,60	0,12	0,36	11,51	23,37
#2 Félix 71-73 cm	72,54	0,89	0,10	1,65	10,59	3,39
#2 Félix 81-83 cm	19,40	0,85	0,11	5,77	29,20	2,08
#2 Félix 91-93 cm	76,24	0,98	0,10	17,20	5,68	0,28
#3 Gererês 9-11 cm	7,47	0,98	0,10	2,43	34,73	14,19
#3 Gererês 19-21 cm	1,75	0,91	0,42	2,03	8,23	3,25
#3 Gererês 29-31 cm	10,05	0,87	0,14	2,04	29,68	12,09
#3 Gererês 39-41 cm	7,59	0,79	0,89	0,89	25,11	24,41
#3 Gererês 59-61 cm	1,53	0,93	0,79	6,55	24,43	3,26
#3 Gererês 69-71 cm	15,00	0,89	0,11	1,61	18,11	9,48
#3 Gererês 79-81 cm	6,11	0,93	0,71	1,91	21,75	9,34
#4 Bóia 2 9-11 cm	0,42	0,17	0,20	0,06	5,54	2,43
#4 Bóia 2 19-21 cm	2,42	0,06	0,32	0,01	1,25	47,60
#4 Bóia 2 29-31 cm	11,75	0,61	0,15	2,43	22,30	7,44
#4 Bóia 2 49-51 cm	4,86	0,74	0,15	0,66	33,00	23,05

OLs. Totais - esteróis totais; Cop. – coprostanol; e-cop. - epicoprostanol

Tabela 26 (continuação): Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos Esteróis Totais (OLs Totais) e principais razões de esteróides em cada profundidade dos locais amostrados

Testemunho	OLs. Totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestano-3 β -ol	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestano-3-ona	Cop. colesterol	$\frac{(\%cop.+e-cop.)}{OLs. totais}$	$\frac{\%colesterol}{OLs. totais}$
#4 Bóia 2 59-61 cm	2,15	0,72	0,26	3,10	11,36	0,48
#4 Bóia 2 69-71 cm	4,96	0,70	0,12	0,53	11,13	17,34
#4 Bóia 2 79-81 cm	2,42	0,52	0,18	1,31	23,13	9,57
#4 Bóia 2 89-91 cm	7,37	0,03	0,25	0,01	2,18	64,08
#5 Anhaia 21-23 cm	7,22	0,08	0,67	0,02	1,45	67,65
#5 Anhaia 31-33 cm	6,80	0,82	0,99	0,09	0,26	1,59
#5 Anhaia 41-43 cm	2,45	0,08	0,86	0,02	1,30	49,25
#5 Anhaia 51-53 cm	0,14	0,35	1,00	0,11	8,45	25,86
#5 Anhaia 61-63 cm	0,54	0,86	0,99	1,28	28,78	21,12
#5 Anhaia 71-73 cm	1,39	0,55	0,95	0,25	3,56	11,91
#5 Anhaia 81-83 cm	6,93	0,64	0,93	0,38	1,54	3,66
#5 Anhaia 91-93 cm	3,05	0,60	0,86	0,33	10,10	29,38
#6 Itiberê 11-13 cm	4,07	0,16	0,78	0,04	3,11	68,38
#6 Itiberê 21-23 cm	9,28	0,05	0,88	0,01	0,60	39,07
#6 Itiberê 31-33 cm	10,84	0,03	0,89	0,01	0,32	39,00
#6 Itiberê 41-43 cm	4,65	0,08	0,81	0,02	1,50	72,23
#6 Itiberê 51-53 cm	5,95	0,19	0,96	0,04	1,27	27,09
#6 Itiberê 61-63 cm	10,36	0,10	0,86	0,02	1,03	39,59
#6 Itiberê 71-73 cm	26,01	0,02	0,85	0,01	0,27	44,94
#7 Cotinga 1-3 cm	7,02	0,37	0,64	0,00	0,22	86,72
#7 Cotinga 9-11 cm	148,95	0,64	0,14	0,01	0,36	61,83
#7 Cotinga 19-21 cm	0,30	0,22	0,89	0,06	6,92	64,18
#7 Cotinga 29-31 cm	123,33	0,86	0,22	0,01	0,70	51,47

OLs. Totais - esteróis totais; Cop. – coprostanol; e-cop. - epicoprostanol

Tabela 26 (continuação): Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos Esteróis Totais (OLs Totais) e principais razões de esteróides em cada profundidade dos locais amostrados

Testemunho	OLs. Totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestano-3 β -ol	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestano-3-ona	Cop. colesterol	$\frac{(\%cop.+e-cop.)}{OLs. totais}$	$\frac{\%colesterol}{OLs. totais}$
#7 Cotinga 39-41 cm	4,73	0,11	0,85	0,03	1,75	56,97
#7 Cotinga 49-51 cm	6,91	0,10	0,80	0,02	1,35	53,76
#7 Cotinga 59-61 cm	5,36	0,13	0,82	0,03	1,84	54,05
#7 Cotinga 68-70 cm	5,80	0,08	0,84	0,02	1,08	51,01
#8 Papagaio 1-3 cm	2,85	0,45	0,63	0,01	0,89	83,92
#8 Papagaio 11-13 cm	0,69	0,04	0,97	0,01	1,71	62,13
#8 Papagaio 21-23 cm	5,17	0,08	0,93	0,02	0,72	26,74
#8 Papagaio 31-33 cm	13,25	0,08	0,89	0,02	0,33	14,24
#8 Papagaio 41-43 cm	0,21	0,32	0,97	0,13	8,28	31,94
#8 Papagaio 47-49 cm	18,05	0,06	0,83	0,01	0,83	56,14
#9 Ilha do Mel 1-3 cm	10,05	0,21	0,62	0,00	0,68	90,61
#9 Ilha do Mel 9-11 cm	1,64	0,63	0,89	0,00	0,81	88,30
#9 Ilha do Mel 19-21 cm	4,29	0,07	0,92	0,02	5,62	75,83
#9 Ilha do Mel 29-31 cm	1,22	0,19	0,94	0,05	4,65	68,21
#9 Ilha do Mel 39-41 cm	0,59	0,13	0,91	0,03	1,11	58,24
#9 Ilha do Mel 49-51 cm	1,00	0,13	0,92	0,03	2,46	75,98
#10 Itaqui 1-3 cm	66,94	0,11	0,21	0,00	0,16	86,75
#10 Itaqui 9-11 cm	1,11	0,05	0,98	0,01	1,28	50,31
#10 Itaqui 19-21 cm	2,98	0,03	0,82	0,01	0,70	72,96
#10 Itaqui 29-31 cm	2,70	0,05	0,93	0,01	1,35	76,61
#10 Itaqui 39-41 cm	1,14	0,14	0,87	0,04	3,10	66,77
#10 Itaqui 49-51 cm	3,21	0,14	0,79	0,04	2,89	68,08
#10 Itaqui 59-61 cm	5,46	0,25	0,44	0,07	3,87	52,65

OLs. Totais - esteróis totais; Cop. – coprostanol; e-cop. - epicoprostanol

Tabela 26 (continuação): Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos Esteróis Totais (OLs Totais) e principais razões de esteróides em cada profundidade dos locais amostrados

Testemunho	OLs. Totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestan-3 β -ol	$\frac{5\beta}{(5\beta+5\alpha)}$ colestan-3-ona	Cop. colesterol	$\frac{(\%cop.+e-cop.)}{OLs. totais}$	$\frac{\%colesterol}{OLs. totais}$
#10 Itaqui 69-71 cm	11,78	0,51	0,24	0,09	5,24	60,70
#10 Itaqui 79-81 cm	17,47	0,39	0,19	0,05	2,95	57,93
#10 Itaqui 89-91 cm	5,28	0,09	0,47	0,06	2,75	42,71
#11 Benito 9-11 cm	5,15	0,61	0,75	0,00	0,47	84,61
#11 Benito 19-21 cm	5,12	0,61	0,75	0,00	0,66	84,45
#11 Benito 29-31 cm	64,37	0,78	0,19	0,01	0,74	66,28
#11 Benito 39-41 cm	76,93	0,80	0,20	0,01	0,88	73,57
#11 Benito 59-61 cm	70,30	0,80	0,24	0,01	0,86	68,81
#11 Benito 69-71 cm	206,85	0,82	0,19	0,00	0,26	92,30
#11 Benito 79-81 cm	2,91	0,06	0,84	0,01	1,77	69,20
#12 Guapicum 1-3 cm	15,31	0,55	0,20	0,24	0,13	32,32
#12 Guapicum 9-11 cm	11,55	0,61	0,72	0,31	0,08	22,64
#12 Guapicum 19-21 cm	10,01	0,10	0,67	0,03	0,01	50,25
#12 Guapicum 29-31 cm	26,51	0,14	0,33	0,04	0,02	61,93
#12 Guapicum 39-41 cm	8,69	0,22	0,75	0,07	0,06	56,06
#12 Guapicum 49-51 cm	10,15	0,40	0,79	0,13	0,10	16,34
#12 Guapicum 59-61 cm	4,02	0,17	0,79	0,05	0,04	70,50
#12 Guapicum 69-71 cm	2,35	0,59	0,74	0,19	0,12	56,52
#12 Guapicum 79-81 cm	5,02	0,26	0,34	3,10	0,06	1,66
#12 Guapicum 89-91 cm	1,62	0,70	0,99	0,29	0,10	30,17

OLs. Totais - esteróis totais; Cop. – coprostanol; e-cop. - epicoprostanol

4.7. Cafeína

A presença de cafeína nas amostras indica que há contaminação distintamente antrópica, já que quantidades deste composto são ingeridas por seres humanos em diversas formas, dentre elas, bebidas cafeinadas (Siegener & Chen, 2002).

As concentrações de cafeína encontradas nos perfis sedimentares variaram entre 6 e 18,4 ng g⁻¹, respectivamente em #5 Anhaia (51-53 cm) e #12 Guapicum (79-81 cm) (Figura 38). A concentração máxima de cafeína determinada para grande parte dos locais amostrados não obteve variação significativa, ficando em torno de 6 a 9 ng g⁻¹. O local que apresentou menor concentração deste composto para todo o perfil sedimentar foi o #2 Félix, detectado somente na primeira camada analisada (21-23 cm). Em #10 Itaqui pode-se observar que a concentração de cafeína foi constante em toda a profundidade do testemunho, obtendo concentração em torno de 6 ng g⁻¹, apesar desta ser considerada uma zona sem interferência antrópica. A concentração constante de cafeína pode ser influenciada pelo aporte também constante que pode haver neste local ou pelo transporte através da coluna d'água até essa área, visto que a cafeína não particiona preferencialmente no sedimento podendo ser carregado por longas distâncias de acordo com a hidrodinâmica da região.

Através da análise granulométrica do testemunho #10 Itaqui tem-se que os sedimentos, em muitas camadas, são compostos por silte e argila, no qual o material orgânico tende a ficar adsorvido. Apesar do testemunho #12 Guapicum também estar localizado afastado dos centros urbanos, este testemunho apresentou a maior concentração de cafeína. Este fato pode estar relacionado com a presença de pequenos vilarejos existente na região e com a hidrodinâmica do local, já que a circulação da região, quando em maré alta, pode transportar este contaminante através da coluna d'água até a baía de Laranjeiras (local onde foram coletados estes testemunhos) (Kolm *et al.*, 2002).

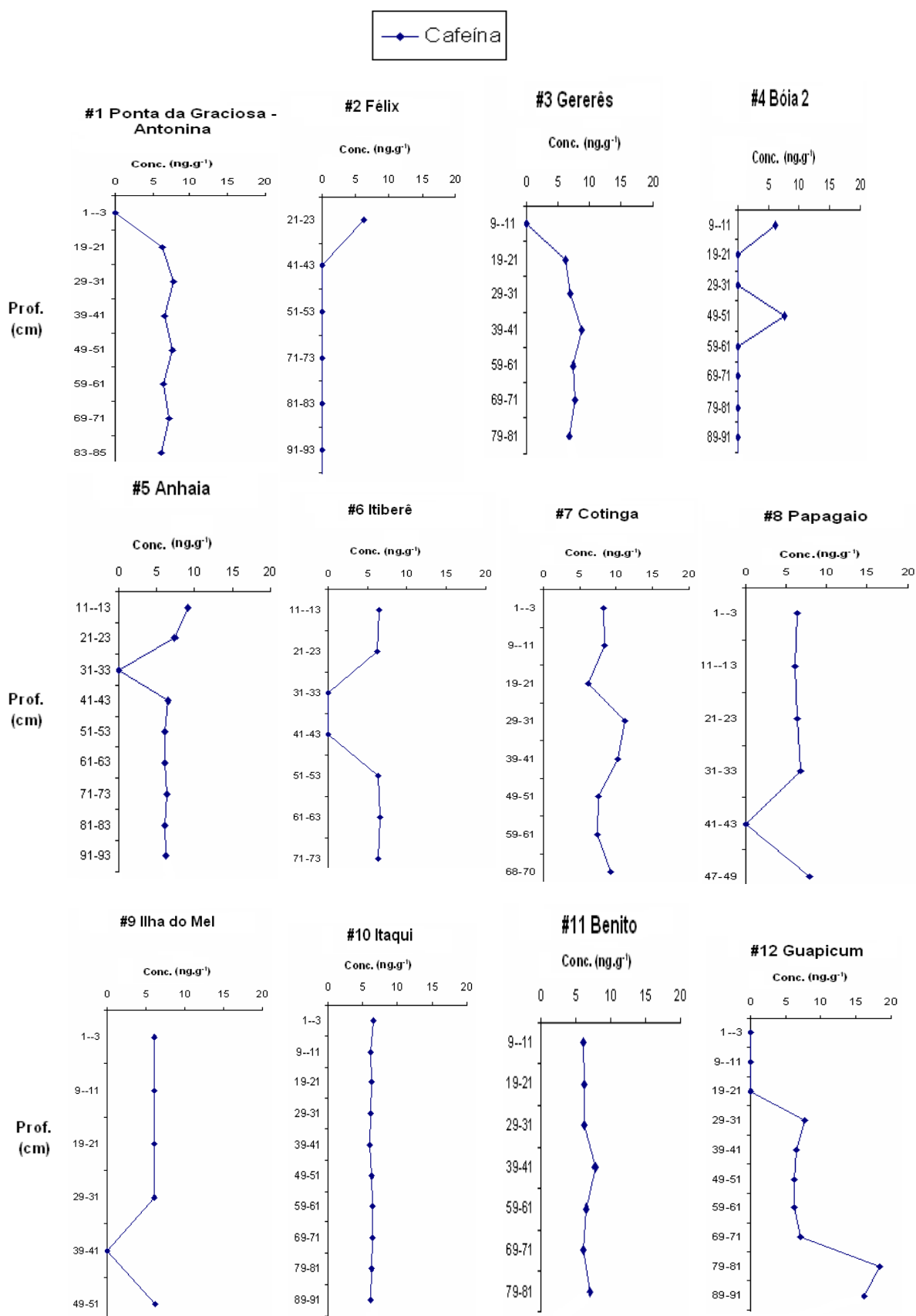


Figura 38 – Concentração (ng g⁻¹ peso seco) de cafeína para os 12 testemunhos coletados no CEP

A cafeína não demonstrou ser um bom marcador molecular no compartimento sedimento, não mostrando relação com aporte ao passar dos anos, visto que em locais urbanizados foram encontradas concentrações menores que em locais afastados dos centros urbanos, podendo ser justificado pela sua considerável solubilidade em água ($13,5 \text{ g L}^{-1}$) e por possuir um coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) de 0,01, permanecendo na coluna d'água e não particionando no sedimento. Isso acarreta num transporte por longas distâncias, afastando-se das fontes e também favorecendo sua degradação na coluna d'água (Gardinali & Zhao, 2002).

O presente estudo baseou-se na análise deste contaminante orgânico em sedimentos descrita em Mitra & Rice (2007), sendo que este foi o único trabalho envolvendo a análise do presente composto no sedimento. Porém, esses pesquisadores propuseram apenas um método de extração e quantificação e não propriamente coletaram sedimentos e os analisaram.

4.8. Histórico da urbanização do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e avaliação integrada dos parâmetros analisados

A colonização da região originou-se da imigração de habitantes de São Vicente e de Cananéia, ambas cidades do estado de São Paulo, entre 1550 e 1560, que se estabeleceram na Ilha da Cotinga, pertencente ao atual território de Paranaguá, município mais urbanizado da região e principal responsável pelo aporte de contaminantes orgânicos ao ambiente, principalmente através de esgotos domésticos sem tratamento adequado lançados aos corpos d'água da região, tendo em vista que só no período republicano (1902) houve desenvolvimento na região (Caneparo, 2000). Como toda a urbanização, iniciou às margens do rio, rio esse denominado Tagaré ou Taquaré, atual Itiberê, o que talvez justifique as concentrações de esteróides fecais encontradas do testemunho #6 Itiberê, entre 41 e 63 cm e nas camadas superficiais até 20 cm, e uma diminuição nas concentrações nas camadas intermediárias (20 a 41 cm), indicando que no início da urbanização o lançamento de esgotos foram freqüentes e ficaram registrados nas camadas sedimentares.

O Município de Paranaguá concentra praticamente metade da população do litoral do estado. A taxa média de crescimento anual da população urbana para o período de 1970 a 2000 foi de 2,6% e a taxa de urbanização em 2000 foi de 96%. Em 2007 possuía aproximadamente 133.000 habitantes. Este município atendeu ao crescimento populacional expandindo sua área urbana, entretanto os locais ocupados são juridicamente irregulares e se localizam em áreas ambientalmente frágeis, gerando problemas diversos, como desmatamentos, causando erosão e assoreamento nas bacias hidrográficas da Serra do Mar (IBGE, 2007), justificando a granulometria predominantemente de areia fina em quase todos os testemunhos da região do CEP, principalmente os localizados próximos as desembocaduras dos rios como #5Anhaia e #6 Itiberê.

Os bairros de Paranaguá cresceram sem o devido planejamento e sem a implantação dos serviços públicos básicos, como o saneamento, fator este que possibilita o lançamento indevido de esgotos domésticos e industriais, sem nenhum tipo de tratamento nos corpos d'água da região (IBGE, 2007), justificando a presença de esteróides fecais encontrados em algumas camadas de todos os

testemunhos e também a presença de concentrações significativas de alquilbenzenos lineares em algumas camadas analisadas.

No início do século XX, a situação do Porto da cidade de Paranaguá que se localizava nas margens do rio Itiberê era precária, o canal era pequeno, pouco profundo e sujeito ao contínuo assoreamento. Desta forma tornou-se necessário a mudança de localização das instalações portuárias. Em 17 de março de 1935, foi inaugurado o Porto D. Pedro II conhecido popularmente como Porto de Paranaguá, em um local denominado Enseada do Gato, às margens da baía de Paranaguá (Morgenster, 1985). A partir da transferência definitiva do porto das margens do rio Itiberê para as margens da baía de Paranaguá e em decorrência da exportação de café, ocorreu uma ocupação intensa na região norte da cidade, principalmente na década de 50. O crescimento das atividades portuárias tornou Paranaguá pólo de atração de populações do campo e de outras localidades, resultando em desequilíbrios sociais e espaciais na cidade (Godoy, 1988).

Na região do canal que dá acesso ao porto de Paranaguá foram coletados os testemunhos #3 Gererês e #4 Bóia 2, sendo que para estes foram realizadas análises geocronológicas que indicaram até 60 cm o período máximo de 73 e 58 anos, respectivamente. Em #4 Bóia 2 houve pequena mistura na camada superficial (primeiros 29 cm), e através dos dados do Σ LABs, logo abaixo desta camada, a concentração dos contaminantes diminuiu com o aumento da profundidade até 51 cm, datando de 1971, o que indica que o desenvolvimento que ocorreu na região nos últimos 30 anos ficou registrado nestas camadas do testemunho. O mesmo foi observado com relação a concentração de coprostanol, onde a diminuição foi progressiva dos 29-61 cm do perfil sedimentar.

Em #3 Gererês observou-se que até os 60 cm datados, no qual datava de 1933, houve aumento nas concentrações de coprostanol em direção ao topo do testemunho, desconsiderando-se apenas a camada de 19-21 cm a qual se observa poucas concentrações de todos os esteróides analisados, onde pode ter ocorrido algum erro analítico. Para o Σ LABs a concentração também aumentou em direção ao topo do testemunho, indicando que o desenvolvimento da região também ficou registrado nas camadas deste testemunho. Observou-se que apenas na camada de 9-11 cm houve concentração inferior a camada subsequente (19-21 cm), entretanto com valor muito próximo e na mesma ordem de grandeza, o que indica que esta

variação está diretamente relacionada ao %COT e a granulometria desta camada especificamente.

Ainda na região de Paranaguá, foram coletados os testemunhos #5 Anhaia, #7 Cotinga, #8 Papagaio. Destes testemunhos o que apresentou maior interferência antropogênica foi o #7 Cotinga, seguido de #5 Anhaia e #8 Papagaio, sendo que neste último, o aporte natural foi muito mais significativo. Em #7 Cotinga houve aumento do Σ LABs com a diminuição da profundidade (exceto na profundidade 19-21 cm), podendo se estabelecer relação com o desenvolvimento da região. Nos testemunhos #5 Anhaia e #8 Papagaio, observa-se que as concentrações encontradas diminuem em direção ao topo, sendo superiores nas camadas mais profundas do testemunho. Isso mostra que aportes mais antigos são mais significativos que os recentes. Esse fato pode ser explicado pelas grandes concentrações de colesterol, ergosterol, estigmasterol e β -sitosterol encontradas em camadas profundas, explicando assim as altas concentrações de Σ Esteróis totais (Σ OLs totais) em sedimentos antigos.

Antonina é o segundo maior município da região do CEP com uma população de 17.581 habitantes (IBGE, 2007). É considerada uma cidade histórica e turística, que preserva ambientes de manguezais e mata atlântica, sendo fundada em 1714 e obteve autonomia municipal em 1797. É uma região que apresenta grande diversidade de ambientes e uma cobertura vegetal constituída por uma das áreas mais bem preservada da Mata Atlântica. Através da baía de Antonina tem-se um dos principais recursos para a movimentação da economia da região, onde se tem a pesca artesanal como uma das principais formas de sustentabilidade da população local e dois terminais portuários que servem como ponto estratégico para o escoamento da produção dos estados do sul do Brasil que tiveram marcante contribuição no desenvolvimento habitacional e econômico da região (Correa *et al.*, 2005).

Neste ambiente foram coletados 2 testemunhos, #1 Ponta da Graciosa - Antonina e #2 Félix, sendo o primeiro coletado em local mais afastado da urbanização, o que justifica os resultados onde houve predomínio de fontes naturais referente a análises de esteróides, mas foi encontrado coprostanol nas camadas de 39-51 cm e 69-71 cm. Para este mesmo local, através das análises do Σ LABs, pode-se observar concentrações significativas deste composto em todas as camadas

analisadas. Porém, não foi observado o reflexo do desenvolvimento da região tendo em vista que as concentrações dos compostos analisados foram superiores nas camadas mais profundas, uma justificativa seria o fato de ter se tornado área de preservação ambiental e desta forma os lançamentos de efluentes sejam mais controlados pelos órgãos de proteção ambiental. Este testemunho não foi datado por isto a integração temporal é apenas suposição. Já o testemunho #2 Félix foi coletado no canal de acesso aos terminais portuários de Antonia, que são dois terminais distintos, o Terminal Barão de Tefé e o Terminal da Ponta do Félix, sendo neste último onde foi feita a coleta. Neste testemunho a análise de datação foi realizada, entretanto abrangeu apenas 15 anos, desta forma a integração ficará comprometida. Através das camadas sedimentares analisadas, houve bastante variação nas concentrações dos compostos orgânicos, não imprimindo perfil de aumento das concentrações com o desenvolvimento da região, este fato pode ser justificado por possível região de dragagem ao qual acarreta a remobilização e interfere nos registros históricos.

Em 1975, foi aberto o Canal da Galheta, para passagem de navios com destino ao Porto de Paranaguá. Até então, os navios utilizavam os canais sueste e norte. Em 21 de setembro de 1988, foi criada a Estação Ecológica da Ilha do Mel. Em 1998, através de cabos submarinos, a luz elétrica chega do continente, vinte e quatro horas por dia, seguindo também, para a Ilha das Peças e para a Ilha de Superagüi (Giannini *et al.*, 2004). Atualmente, nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, há um grande aporte de turistas na Ilha do Mel, podendo chegar a um fluxo de 70.000 pessoas (dados fornecidos pela Polícia Florestal). Assim, no verão a principal atividade econômica é o turismo. Nesta região foi coletado um testemunho denominado #9 Ilha do Mel, no qual em geral as concentrações do Σ Esteróides totais analisados no testemunho estiveram baixas, com leve aumento das concentrações em direção ao topo (com exceção da camada de 9 -11 cm), não havendo também concentração de coprostanol que indicasse impacto antropogênico. Já para o Σ LABs, encontrou-se concentrações significativas indicando que o desenvolvimento da região ficou registrado nas camadas deste testemunho, principalmente na superfície e sub-superfície (até 11 cm).

Os testemunhos #10 Itaquí, #11 Benito e #12 Guapicum foram coletados como pontos Controles, pois se encontram na região norte do CEP onde compreende estações de proteção ambiental, e localizam-se afastados dos

principais centros urbanos, desta forma, esperava-se encontrar baixas ou inexistentes intervenções antropogênicas, entretanto encontraram-se concentrações de esteróides fecais (principalmente o coprostanol), LABs e cafeína, presente na maioria das camadas dos testemunhos. Em relação as concentrações do Σ LABs pode-se observar um declínio com o passar dos anos, sendo que no topo do testemunho as concentrações geralmente são maiores.

Já Guaraqueçaba, principal cidade da região norte do CEP (em torno de 8.000 habitantes) possuiu sua fase de ascensão em meados do século XIX, por ser uma região que continha vias navegáveis para canoas e pequenos barcos, que possibilitavam comunicações marítimas e fluviais mais intensas tanto com cidades como Antonina e Paranaguá, quanto com cidades do litoral sul paulista (Ipardes, 1995). Apesar desta incipiente vitalidade econômica desta região, no início do século XX, a implantação dos meios de comunicação terrestre ligando o litoral ao planalto, através da ferrovia Curitiba-Paranaguá, contribuiu para que a região entrasse em um processo de declínio, talvez por isso os aportes de contaminantes apresentassem picos de máximos em ocasiões distintas, principalmente nas camadas sub-superficiais dos testemunhos #10 Itaqui, #11 Benito e #12 Guapicum. Esta região recebe ainda intervenções antropogênicas das populações de quatro Ilhas: Peças, Superagüi, Pinheiro e Pinheirinho e uma porção continental, que abrange o vale do Rio dos Patos. As Ilhas de Superagüi e Peças possuem aproximadamente 1.200 habitantes distribuídos em doze comunidades que se dedicam primordialmente à pesca artesanal. Destas comunidades, cinco pertencem a Ilha das Peças, denominando-se: Ponta das Peças, Guapicum (local de coleta do testemunho #12), Tibicanga, Laranjeiras e Bertiooga. As outras sete comunidades pertencem à Ilha do Superagüi e denominam-se: Barra do Superagüi, Colônia do Superagüi, Barbados, Canudal, Fátima, Ararapira e Vila do Ararapira (Sahlins, 2003).

Apesar da riqueza natural, Guaraqueçaba é uma das regiões mais pobres do Paraná, com uma economia de pequeno crescimento e baixos níveis de qualidade de vida, marcada por uma série de problemas de gestão, desenvolvimento e conservação, levando as comunidades locais a buscarem alternativas não sustentáveis e algumas vezes ilegais para suprir necessidades básicas, tais como: pesca predatória, caça, extração de palmito, desmatamento e retirada de areia, entre outros problemas como a inexistente rede de tratamento de esgotos (IPÊ, 2003)

causando o aporte de contaminantes ao ambiente aquático além de interferirem na disposição natural dos sedimentos e intervenções ao ecossistema.

Através dos compostos analisados, pode-se perceber que a intervenção antropogênica foi mais marcante nos testemunhos coletados no eixo leste-oeste do CEP e o desenvolvimento da região ficou registrado com o aumento do aporte dos contaminantes nas camadas próximas ao topo dos testemunhos #2 Félix, #3 Gererês, #4 Bóia 2, #9 Ilha do Mel e na região norte através do testemunho #10 Itaqui.

5. CONCLUSÃO

As metodologias analíticas utilizadas na realização deste trabalho utilizando CG-EM foram otimizadas e validadas o que garantiu confiabilidade nos resultados obtidos.

Pelas análises dos LABs, foi possível observar que existem aportes preferenciais de alquil-benzenos lineares com 12 átomos de carbono (C_{12} -LAB), seguido do C_{13} - LAB e C_{11} - LAB, no entanto o LAB com 14 átomos de carbono não foi identificado em nenhuma amostra. As mais altas concentrações para o Σ LABs se localizam nos perfis mais próximos a zonas urbanas.

Os esteróides revelaram forte contribuição de fontes naturais nos sedimentos (β -sitosterol, estigmasterol, colestanol e estigmastanol) caracterizando predomínio de fontes biogênicas na composição da matéria orgânica sedimentar, principalmente nos testemunhos coletados na região norte do CEP, sendo detectada contaminação de origem fecal nas regiões próximas as zonas urbanizadas, mostrando-se eficientes marcadores moleculares, tendo em vista que são amplamente utilizados para este propósito.

A partir do perfil individual de esteróides e LABs foi possível verificar que os locais com maior contaminação por esgotos urbanos estão localizados no eixo leste-oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá, mais especificamente no entorno da cidade de Paranaguá e saídas dos rios Anhaia e Itiberê.

A cafeína não se mostrou eficiente marcador molecular de aporte antrópico em sedimentos.

De acordo com as análises dos perfis sedimentares para os 12 testemunhos, pode-se observar que o Complexo Estuarino de Paranaguá é um ambiente onde a contaminação pode ser considerada de baixa a moderada, apresentando valores similares a locais classificados como tal, e que o desenvolvimento da região nos últimos 30 anos contribuiu para o aumento das emissões destes aportes que puderam ser observados nas camadas próximas ao topo nos perfis dos testemunhos #2 Félix, #3 Gererês, #4 Bóia 2, #9 Ilha do Mel e #10 Itaqui.

6. RECOMENDAÇÕES FUTURAS

Utilizar dados geocronológicos calculados para todos os testemunhos coletados, pois dentro do CEP existem processos hidrodinâmicos característicos de cada região, não dando para se generalizar a datação.

Em estudos futuros de deposição histórica deve ser prevista a coleta simultânea de dois ou mais testemunhos para cada local de estudo, a fim de possibilitar um melhor detalhamento dos perfis em termos de datação e compostos analisados para facilitar o processamento das amostras e suas determinações, possibilitando analisar todos os parâmetros na mesma profundidade.

Análises na coluna d'água de cafeína, para verificar seu poder de marcador geoquímico, correlacionando com parâmetros físico-químicos como pH, salinidade, carbono orgânico e material em suspensão, sendo que vários estudos utilizam este composto como marcador antropogênico na coluna d'água.

Realizar estudos que avalie melhor os processos envolvidos no transporte, deposição e degradação destes compostos, em especial os LABs.

7. PRODUÇÃO CIENTÍFICA REFERENTE AO ESTUDO

Hernandes, J.C., Neves, P.A., Rocha, M., Costa, P.G., Machado, E.C., Fillmann, G. Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos na coluna sedimentar sob influência do porto de Paraguá. XV Encontro de Química da Região Sul (XV SBQSul), 15 a 17 de novembro de 2007, Ponta Grossa PR, Brasil.

Hernandes, J.C., Neves, P.A., Rocha, M., Costa, P.G., Fillmann, G. Avaliação histórica da contaminação por hidrocarbonetos de origem antrópica através de marcadores moleculares em sedimentos da Baía de Paranaguá-PR. VI Mostra de Produção Universitária - IX Encontro de pós-graduação - FURG, 26 de outubro de 2007, Rio Grande RS, Brasil.

Hernandes, J.C., Neves, P.A., Rocha, M., Costa, P.G., Fillmann, G. Otimização e revalidação de esteróides em testemunhos sedimentares do Complexo Estuarino de Paranaguá-PR. VII Mostra de Produção Unviersitária – X Encontro de pós-graduação - FURG, 24 de outubro de 2008, Rio Grande RS, Brasil.

Hernandes, J.C., Neves, P.A., Rocha, M., Costa, P.G., Fillmann, G. Otimização e validação de metodologia de Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas para identificação e quantificação de LABs em testemunhos sedimentares do Complexo Estuarino de Paranaguá-PR-Brasil. XII Congresso Latino Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (XII COLACRO), 28 a 30 de Outubro de 2008, Florianópolis SC, Brasil.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA (2003). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RE nº 899, de 29/05/2003*.
- APPA (2008). Administração dos portos de Paranaguá e Antonina. <http://www.portodoparana.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=253>. Acesso em 24 março 2009.
- ASTM (2002). Prática padrão na aplicação da técnica estatística da garantia da qualidade para avaliar o desempenho do sistema de medição analítica. D-6299/02,
- Bandeira, C.M., Ferreira, J.M., Bragagnolo, N., and Mariutti, L.R.B. (2008). Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de colesterol em ração para ruminantes através de planejamento experimental fatorial. *Química Nova* **31**, 1422-1426.
- Bay, S.M., Zeng, E.Y., Lorenson, T.D., Tran, K., and Alexander, C. (2003). Temporal and spatial distributions of contaminants in sediments of Santa Monica Bay, California. *Marine Environmental Research* **56**, 255-276.
- Bayona, J.M. and Albaiges, J. (2004). Sources and fate of organic contaminants in the marine environment. Barcelona. 55 p.
- Brandini, N. (2000). Variação espacial e sazonal da produção primária do fitoplâncton em relação as propriedades físicas e químicas na Baía das Laranjeiras e áreas adjacentes ao Complexo da Baía de Paranaguá (Paraná-Brasil). 134 p.
- Braun, J.A.F. (2006). Uso de esteróides na avaliação de aportes antrópicos e naturais da matéria orgânica no Complexo Estuarino de Paranaguá. FURG, Rio Grande/RS, 84 p.
- Caneparo, S.C. (2000). Análise da dinâmica espacial da ocupação antrópica em Paranaguá/PR (1952-1996), através do uso de sistema de informações geográficas. *R.RA'EGA* **4**, 111-130.
- Carreira, R., Wagener, A.L.R., Fileman, T., and Readman, J.W. (2001). Distribuição de Coprostanol (5 β (H)-coleston-3 β -ol) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: Indicador da poluição recente por esgotos domésticos. *Química Nova* **24**, 37-42.
- Carreira, R.S., Wagener, A.L.R., and Readman, J.W. (2004). Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space-time variations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **60**, 587-598.

- Carvalho, L.R.F., Penteado, J.C.P., and El Seoud, O.A. (2006). Alquilbenzeno sulfonato linear: Uma abordagem ambiental e analítica. *Química Nova* **29**, 1038-1046.
- Choi, K., Kim, Y., Park, J., Park, C.K., Kim, M., Kim, H.S., and Kim, P. (2008). Seasonal variations of several pharmaceutical residues in surface water and sewage treatment plants of Han River, Korea. *Science of The Total Environment*.
- Cordeiro, L.G.S.M., Carreira, R., and Wagener, A.L.R. (2008). Geochemistry of fecal sterols in a contaminated estuary in southeastern Brazil. *Organic Geochemistry* **39**, 1097-1103.
- Correa, R.T., Prado, M.R.M., and Oliveira, C.M.R.D.O. (2005). Análise da contaminação da baía de Antonina (Paraná) por águas residuárias. *RUBS* **1**, 11-12.
- Darling, P.S., Faksness, L.G., Hansen, A.B., and Stout, S.A. (2002). Improved and Standardized Methodology for Oil Spill Fingerprinting. *Environmental Forensics* **3**, 263-278.
- Ferreira, A.P. (2005). Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems. *Cad.Saúde Pública* **21**, 1884-1892.
- FUNPAR. (2006). Fundação da Universidade do Paraná.
- Gagosian, R., Lee, C., and Meinzer, F. (1979). Process controlling the stanol/stenol ratio in Black Sea seawater and sediment. *Nature* **280**, 574-576.
- Gardinali, P.R. and Zhao, X. (2002). Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (LC-APCI-MS). *Environment International* **28**, 521-528.
- Giannini, P.C.F., Angulo, R.J., Souza, M.C.d., Kogut, J.S., and Delai, M.d.S. A erosão na costa leste da Ilha do Mel, Baía de PARanaguá, Estado do Paraná: Modelo baseado na distribuição espacial de formas deposicionais e propriedades sedimentológicas. *Revista Brasileira de Geociências* 34(2), 231-242. 2004.
Ref Type: Magazine Article
- Godoy, A.M.R. (1988). Os impactos socioambientais na expansão do porto de Paranaguá frente à maior inserção do Brasil no mercado internacional. *Meio ambiente e desenvolvimento no litoral do Paraná:diagnóstico* 231-235.
- Grimalt, J.O., Fernández, P., Bayona, p., and Albaiges, J. (1990). Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. *Environmental Science & Technology* 357-363.
- Gustafsson, Ö., Long, C.M., Macfarlane, J., and Gschwend, P.M. (2001). Fate of Linear Alkylbenzenes Released to the Coastal Environment near Boston Harbor. *Environmental Science & Technology* **35**, 2040-2048.
- Hartmann, P.C., Quinn, J.G., King, J.W., Tsutsumi, S., and Takada, H. (2000). Intercalibration of LABs in Marine Sediment SRM1941a and Their Application as a

Molecular Marker in Narragansett Bay Sediments. *Environmental Science & Technology* **34**, 900-906.

IBGE (2007). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php>. Acesso em 10 abril 2006.

Ignácio, G.M. (2007). Avaliação da Contaminação por hidrocarbonetos em água, sedimento e ostras do complexo estuarino da Baía de Paranaguá (Paraná - Brasil). Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica), Fundação Universidade Federal de Rio Grande, 82 p.

INMETRO (2003). Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQCGCRE-008,

Ipardes (1995). Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social.

Versão revista do trabalho Macrozoneamento da APA de Guaraqueçaba de 1990.

IPÊ (2003). Instituto de Pesquisas Ecológicas. Desenvolvimento de Bases Sustentáveis para o Manejo de Recursos Pesqueiros na Região do Parque Nacional do Superagui (Guaraqueçaba-Paraná-Brasil). *Relatório Técnico Final. Convênio 011/2001 - Fundo Nacional do Meio Ambiente - FNMA.*

Jardé, E., Mansuy, L., and Faure, P. (2005). Organic markers in the lipidic fraction of sewage sludges. *Water Research* **39**, 1215-1232.

Kawakami, S.K. (1999). Coprostanol como um indicador químico de contaminação por esgoto urbano em algumas regiões do litoral de São Paulo.

Kennish, M.J. (1992). Ecology if estuaries: anthropogenic effects. *CRC Press*, Boca Raton. 494 p.

Kim, G.B., Maruya, K.A., Lee, R.F., Lee, J.-H., and Koh, C.-H. (1999). Distribution and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediments from Kyeonggi Bay, Korea. *Marine Pollution Bulletin* **38**, 7-15.

Kolm, H.E., Mazzuco, R., Souza, P.S.A., Schoenenberger, M.F., and Pimentone, M.R. (2002). Spatial variation of bacteria in surface water of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, Brazil. *Brasilian Archives of Biology and Tecnology* **35**, 27-34.

Lamour, M.R., Soares, C.R., and Carrilho, J.C. (2004). Mapas de parâmetros textuais de sedimento de fundo do Complexo Extuarino de Paranaguá-PR. *Boletim Paranaense de Geociências* **55**, 77-82.

Lana, P.C. (1986). Macrofauna bêmica de fundos sublitorais não consolidados da Baía de Paranaguá (Paraná) Nerítica, Pontal do Sul. 89 p.

Lana, P.C., Marone, E., Lopes, R.M., and Machado, E.C. (2001). The subtropical estuarine complex of Paranaguá Bay, Brazil. In: U. Seeliger and B. Kjerfve (eds.), *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. Berlim. pp. 131-145.

- Lanças, F.M. (2004). Validação de Métodos Cromatográficos de análise. *Rima*, São Carlos, SP. 46 p.
- Lourenço, R.A. (2003). Metodologia para determinação de biomarcadores geoquímicos orgânicos em sedimentos - Hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, esteróis e alquenonas. Universidade de São Paulo, 101 p.
- Luo, X.J., Chen, S.J., Ni, H.G., Yu, M., and Mai, B.X. (2008). Tracing sewage pollution in the Pearl River Delta and its adjacent coastal area of South China Sea using linear alkylbenzenes (LABs). *Marine Pollution Bulletin* **56**, 136-162.
- Macías-Zamora, J.V. and Ramírez-Alvarez, N. (2004). Tracing sewage pollution using linear alkylbenzenes (LABs) in surface sediments at the south end of the Southern California Bight. *Environmental Pollution* **130**, 229-238.
- MacVeety, B.D. and Hites, R.A. (1988). Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons to waters surfaces: a mass balance approach. *Atmospheric Environmental* **22**, 511-536.
- Mantovanelli, A., Marone, E., da Silva, E.T., Lautert, L.F., Klingenfuss, M.S., Prata, V.P., Noernberg, M.A., Knoppers, B.A., and Angulo, R.J. (2004). Combined tidal velocity and duration asymmetries as a determinant of water transport and residual flow in Paranaguá Bay estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **59**, 523-537.
- Martins, C.C. (2001). *Avaliação da introdução de Esteróis Fecais e Hidrocarbonetos Marcadores Geoquímicos em Sedimentos da Baía do Almirantado, Península Antártica*. Universidade de São Paulo, 116 p.
- Martins, C.C., Fillmann, G., and Montone, R.C. (2007). Natural and anthropogenic sterols inputs in surface sediments of Patos lagoon, Brazil. *Journal of Brazilian Chemical Society* **18**, 106-115.
- Martins, C.C., Gomes, F.B.A., Ferreira, J.A., and Montone, R.C. (2008). Marcadores orgânicos de contaminação por esgotos sanitários em sedimentos superficiais da baía de Santos, São Paulo. *Química Nova* **31**, 1008-1014.
- Medeiros, P.M. and Bícago, M.C. (2004a). Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos, SP - Brazil. *Marine Pollution Bulletin* **49**, 761-769.
- Medeiros, P.M. and Bícago, M.C. (2004b). Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. II. São Sebastião, SP - Brazil. *Marine Pollution Bulletin* **49**, 892-899.
- Medeiros, P.M., Bícago, M.C., Castela, R.M., Rosso, C.D., Fillmann, G., and Zamboni, A.J. (2005). Natural and anthropogenic hydrocarbons inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Environment International* **31**, 77-87.
- Miller, J.C. and Miller, J.N. (1988). Statistics for analytical chemistry. *John Wiley and Sons*, Chichesters, UK. 227 p.

- Mitra, S. and Rice, S.L. (2007). Microwave-assisted solvent extraction of solid matrices and subsequent detection of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) using gas chromatography-mass spectrometry. *Reference methods for analytica chimica acta* **589**, 125-132.
- Morgenster, A. (1985). Porto de Paranaguá, contribuição à história período: 1648/1935. *Paranaguá: Administração dos portos de Paranaguá e Antonina* -139.
- Muniz, P., Vanin, A.M.S.P., Martins, C.C., Montone, R.C., and Bicego, M.C. (2006). Trace metals and organic compounds in the benthic environment of a subtropical embayment (Ubatuba Bay, Brazil). *Marine Pollution Bulletin* **52**, 1090-1117.
- Nascimento, M.G. (2008). Aplicação dos radionucleotídeos Cs-137 e Pb-210 na determinação da taxa de sedimentação de sedimentos recentes da baía do Almirantado, Península Antártica. UFPR. 71 p.
- Netto, S.A. and Lana, P.C. (1997). Influence of *Spartina alterniflora* on superficial sediment characteristics of Tidal Flats in Paranaguá Bay (South-eastern Brazil). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **44**, 641-648.
- Niencheski, L.F. and Fillmann, G. (2006). Contaminantes: Metais, Hidrocarbonetos e Organoclorados. In: P.C. Lana, A. Bianchini, C.A.O. Ribeiro, L.F.H. Niencheski, G. Fillmann, and C.S.G. Santos (eds.), Avaliação Ambiental de Estuários Brasileiros: Diretrizes Metodológicas. *Museu Nacional*, Rio de Janeiro, RJ. pp. 63-118.
- Noernberg, M.A. (2001). Processos morfodinâmicos no complexo Estuarino de Paranaguá - Paraná - Brasil: um estudo a partir de dados in situ e landsat-TM.
- Paschoal, J.A.R., Rath, S., Airoidi, F.P.S., and Reyes, F.G.R. (2008). Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. *Química Nova* **31**, 1190-1198.
- Peeler, K.A. (2004). Caffeine as an anthropogenic source indicator in freshwater and marine systems. The Florida State University, 146 p.
- Penteado, J.C.P. (2005). Desenvolvimento e Aplicação do Método Analítico para Determinação de LAB em Detergentes por SPME-GC/MS. Universidade de São Paulo, 125 p.
- Pratt, C., Warnken, J., Leeming, R., Arthur, M.J., and Grice, D.I. (2008). Degradation and responses of coprostanol and selected sterol biomarkers in sediments to a simulated major sewage pollution event: A microcosm experiment under sub-tropical estuarine conditions. *Organic Geochemistry* **39**, 353-369.
- Raymundo, C.C. and Preston, M.R. (1992). The distribution of linear alkylbenzenes in coastal and estuarine sediments of the Western North Sea. *Marine Pollution Bulletin* **24**, 138-146.
- Ribani, M., Bottoli, C.B.G., Collins, C.H., Jardim, I.C.S.F., and Melo, L.F.C. (2004). Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova* **27**, 771-780.

- Rosso, C.D. (2005). Avaliação dos aportes de hidrocarbonetos à Lagoa dos Patos (RS-Brasil). 118 p.
- Sá, F. (2003). Distribuição e Fracionamento de contaminantes nos sedimentos superficiais e atividades de dragagem no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá, PR. Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 92 p.
- Sahlins (2003). Ilhas de História. Zorge Zahar, Rio de Janeiro-RJ,
- Siegener, R. and Chen, R.F. (2002). Caffeine in Boston Harbor seawater. *Marine Pollution Bulletin* **44**, 383-387.
- Stefens, J.L. (2006). Caracterização molecular de compostos orgânicos biogênicos e antropogênicos em sedimentos da lagoa Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro (RJ). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 127 p.
- Stein, R. (1991). Accumulation of organic carbon in marine sediments. Results from the deep sea drilling project/Ocean Drilling Program. *Springer-Verlag* -227.
- Suguio, k. (1973). Introdução à Sedimentologia. 317 p.
- Takada, H. and Eganhouse, R.P. (1998). *Molecular markers of anthropogenic*. In: R.A. Meyers (eds.), Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation. New York. pp. 2883-2940.
- Takada, H., Farrington, J.W., Botner, M.H., Johnson, C.G., and Tripp, B.W. (1994). Transport of sludge-derived organic pollutants to deep-sea sediments at Deep Water Dump Site 106. *Environmental Science & Technology* **28**, 1062-1072.
- Takada, H., Isobe, K.O., Zakaria, M.P., Chiem, N.H., Minh, L.Y., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Saha, M., and Sarkar, S. (2004). Distribution of linear alkylbenzenes (LABs) in riverine and coastal environments in South and Southeast Asia. *Water Research* **38**, 2449-2459.
- USEPA (1995). Appendix B - Definition and procedure for determination of the method detection limit. In: p. -5.
- USEPA (1996). SW-846 Tests methods for evaluating solid wastes, physical/chemical methods: Method 3540C - Soxhelet Extraction. U.S. Environmental Protection Agency On-Line Edition <http://www.epa.gov/SW-846/main.htm>
- Venkatesan, M.I. and Kaplan, I.R. (1990). Sedimentary coprostanol as an index of sewage addition in Santa Monica Basin, southern California. *Environment Science and Technology* **25**, 208-214.
- Venkatesan, M.I. and Santiago, C.A. (1989). Sterols in oceans sediments: novel tracers to examine habitats of cetaceans, pinnipeds, penguins and humans. *Mar.Biol.* **102**, 431-437.
- Volkman, J.K. (1986). Review of sterol markers fat marine and terrigenous matter. *Organic Geochemistry* **9**, 83-99.

- Volkman, J.K. (2005). Sterols and other triterpenoids: source specificity and evolution of biosynthetic pathways. *Organic Geochemistry* **36**, 139-159.
- Wang, Y., Zhang, C., and Qi, S. (2008). Identification and significance of sterols in MSW landfill leachate. *Journal of Chromatography B* **874**, 1-6.
- Wentworth, C.R. (1922). A scale of grade and class terms for clastic sediments. *Journal of Geology* **30**, 377-392.
- Yang, J.P., Liu, X.P., and Zhang, J.W. (1998). Distribution of dibenzothiophene in the sediments of the South China Sea. *Environmental Pollution* **101**, 405-414.
- Zeng, E.Y., Khan, A.R., and Tran, K. (1997). Organic pollutants in the coastal marine environment of san diego, california. 3. using linear alkylbenzenes to trace sewage-derived organic materials. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**, 196-201.

ANEXOS

ANEXO A – CROMATOGRAMAS DOS PADRÕES INDIVIDUAIS DOS ESTERÓIDES E DA CAFEÍNA ANALISADOS PELO MODO SIM

p_MIX_4000ng2

20-May-200823:07:29

p_MIX_4000ng200508

11: SIR of 2 Channels EI+ TIC



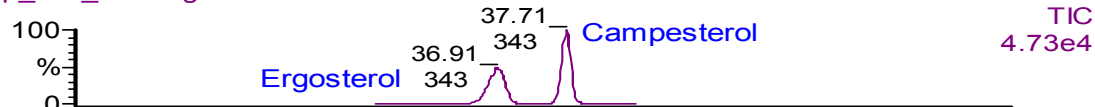
p_MIX_4000ng200508

10: SIR of 4 Channels EI+ TIC



p_MIX_4000ng200508

9: SIR of 4 Channels EI+ TIC



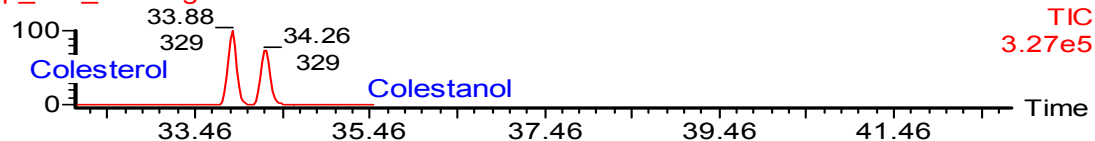
p_MIX_4000ng200508

8: SIR of 5 Channels EI+ TIC



p_MIX_4000ng200508

7: SIR of 4 Channels EI+ TIC



p_MIX_4000ng2

20-May-200823:07:29

p_MIX_4000ng200508

6: SIR of 3 Channels EI+ TIC



p_MIX_4000ng200508

5: SIR of 3 Channels EI+ TIC



p_MIX_4000ng200508

4: SIR of 1 Channel EI+ TIC



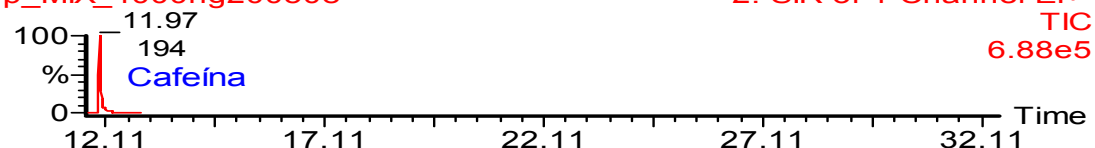
p_MIX_4000ng200508

3: SIR of 1 Channel EI+ TIC

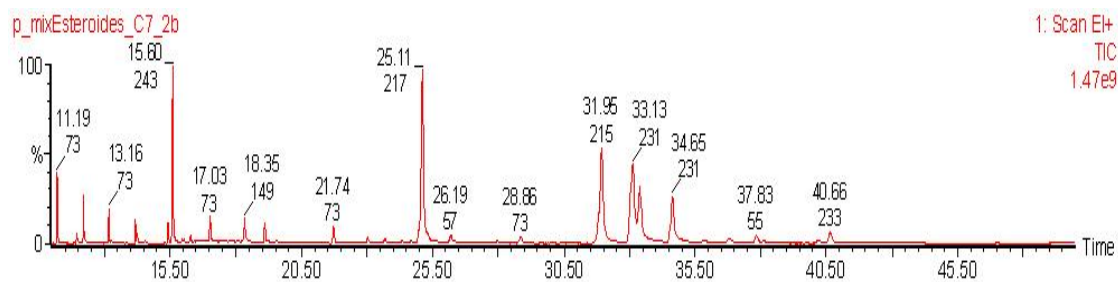


p_MIX_4000ng200508

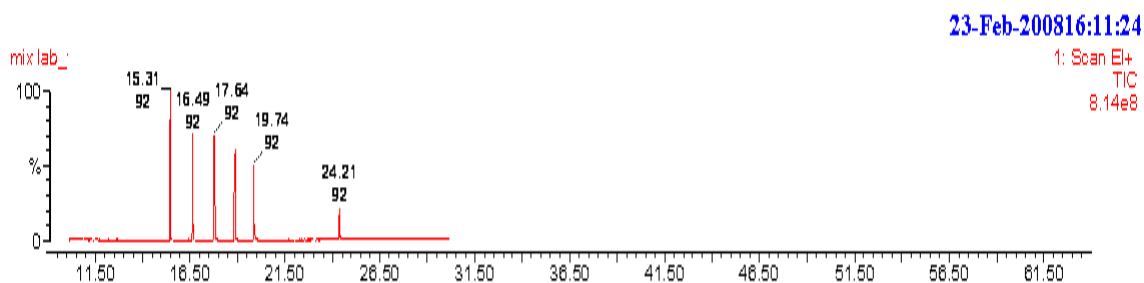
2: SIR of 1 Channel EI+ TIC



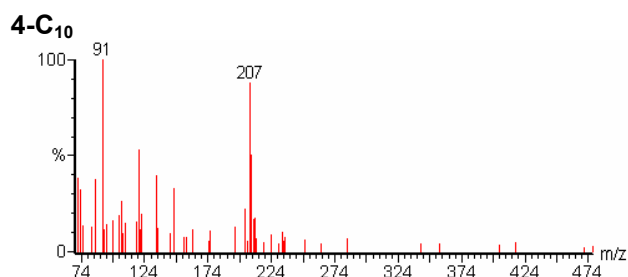
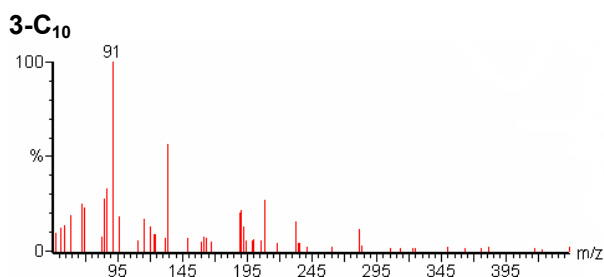
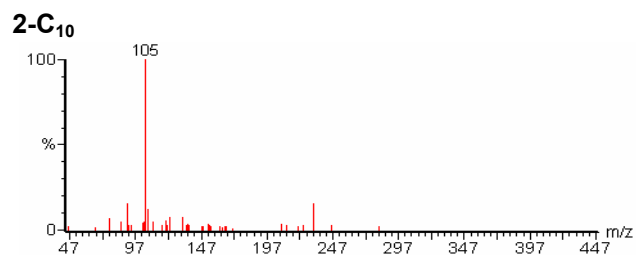
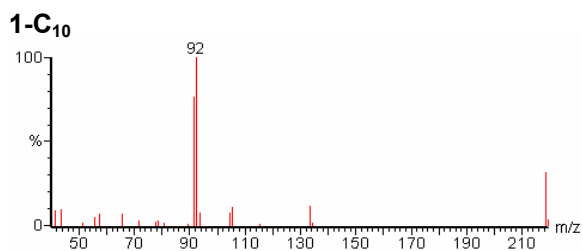
ANEXO B – CROMATOGRAMA DO PADRÃO MIX (ESTERÓIDES E CAFEÍNA) NO MODO SCAN

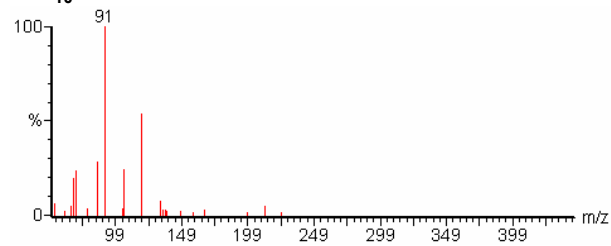
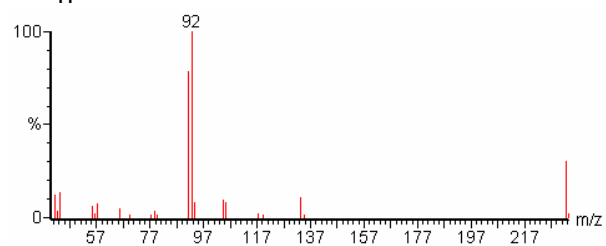
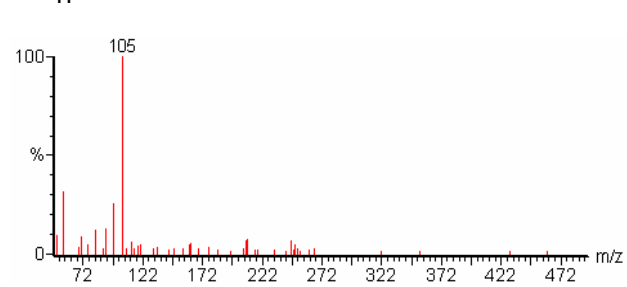
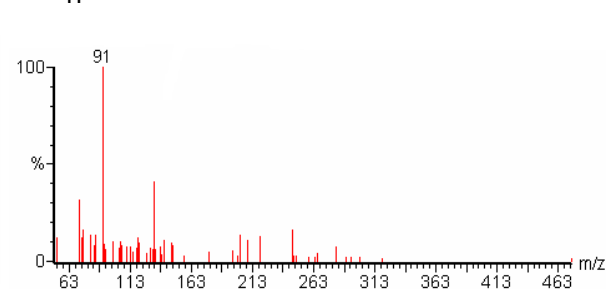
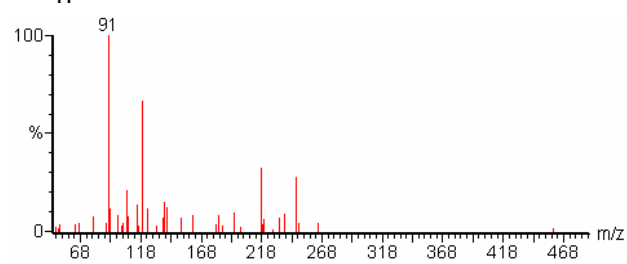
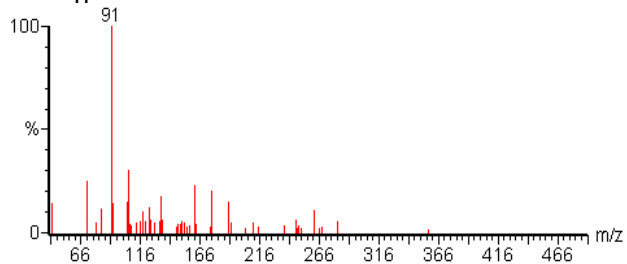
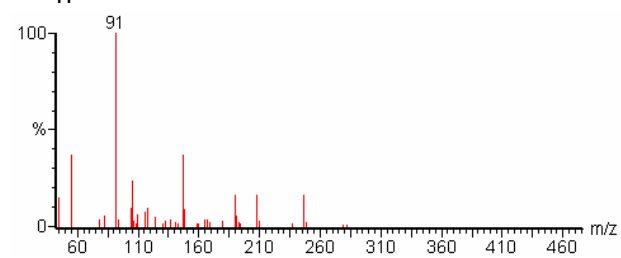
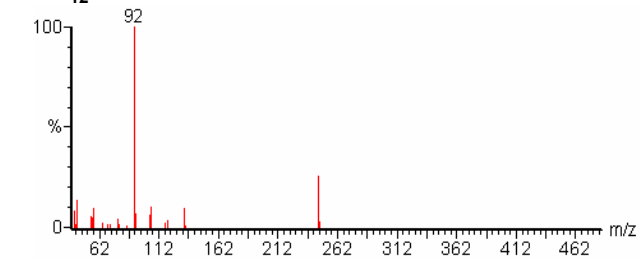
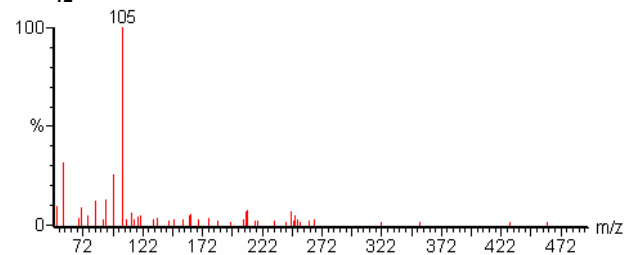
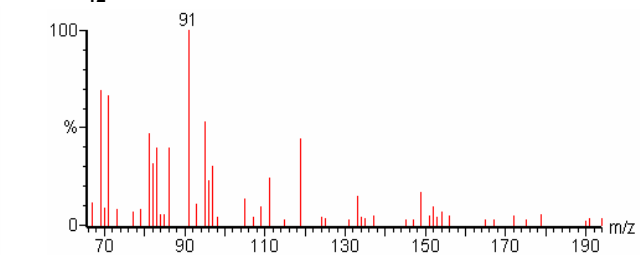


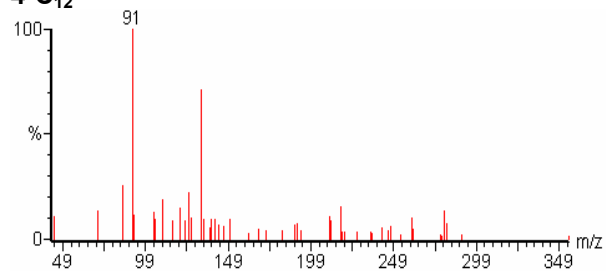
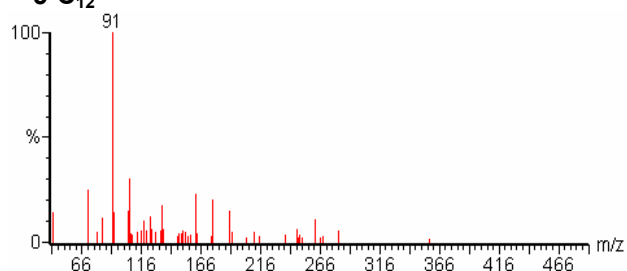
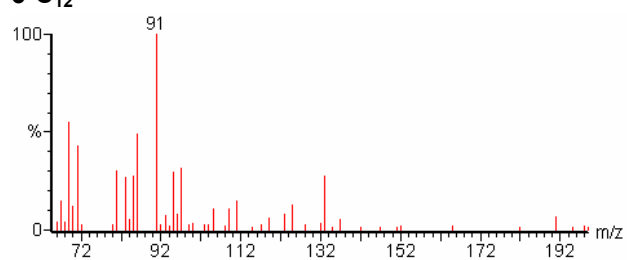
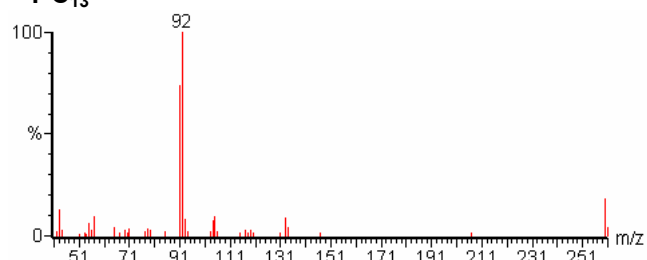
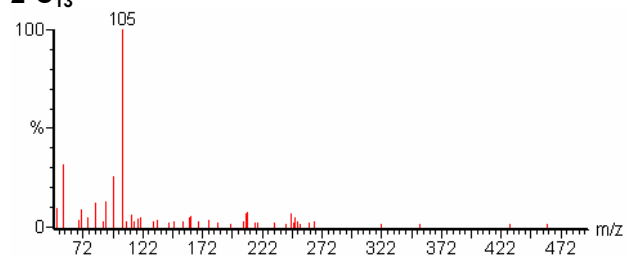
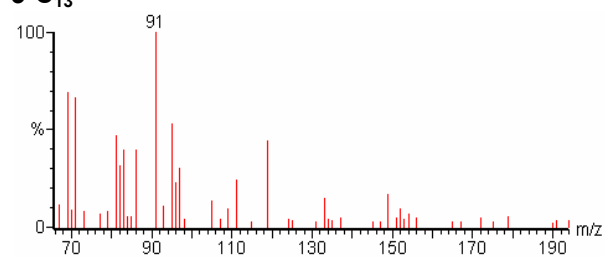
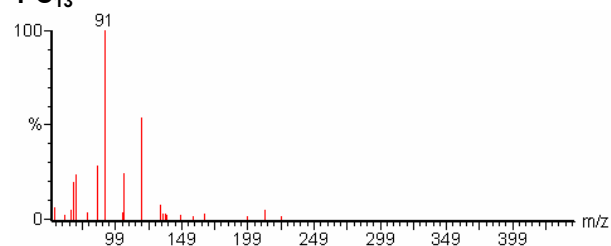
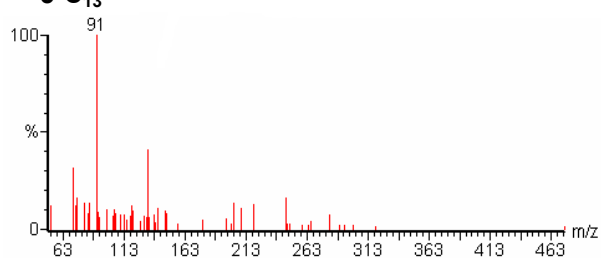
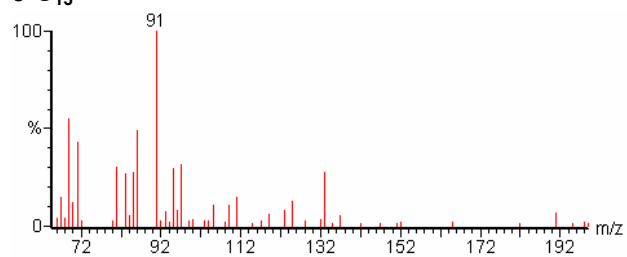
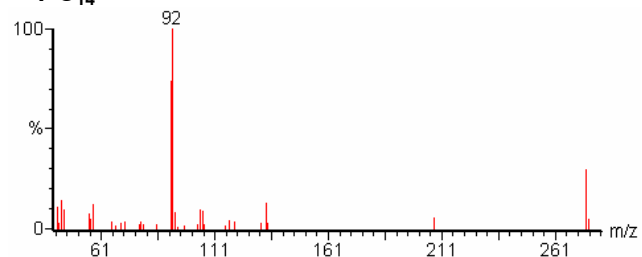
ANEXO C – CROMATOGRAMA DO PADRÃO MIX LAB (1-C₁₀, 1-C₁₁, 1-C₁₂, 1-C₁₃, 1-C₁₄ E 1-C₁₉) NO MODO SCAN

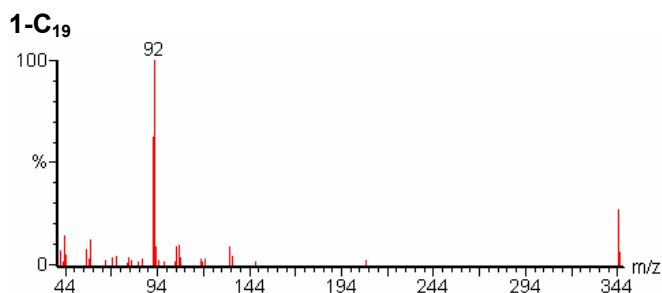


ANEXO D – CROMATOGRAMA DOS ESPECTROS DE MASSA DOS ISÔMEROS DOS LABs (1-C₁₀, 2-C₁₀, 3-C₁₀, 4-C₁₀, 5-C₁₀, 1-C₁₁, 2-C₁₁, 3-C₁₁, 4-C₁₁, 5-C₁₁, 6-C₁₁, 1-C₁₂, 2-C₁₂, 3-C₁₂, 4-C₁₂, 5-C₁₂, 6-C₁₂, 1-C₁₃, 2-C₁₃, 3-C₁₃, 4-C₁₃, 5-C₁₃, 6-C₁₃, 1-C₁₄, 1-C₁₉)

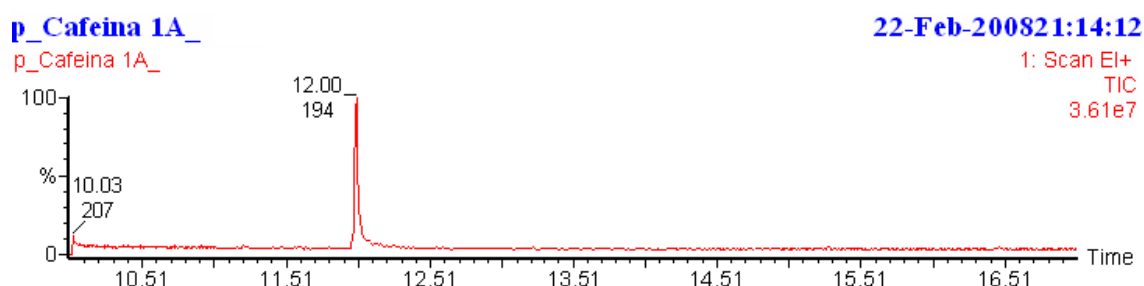


5-C₁₀**1-C₁₁****2-C₁₁****3-C₁₁****4-C₁₁****5-C₁₁****6-C₁₁****1-C₁₂****2-C₁₂****3-C₁₂**

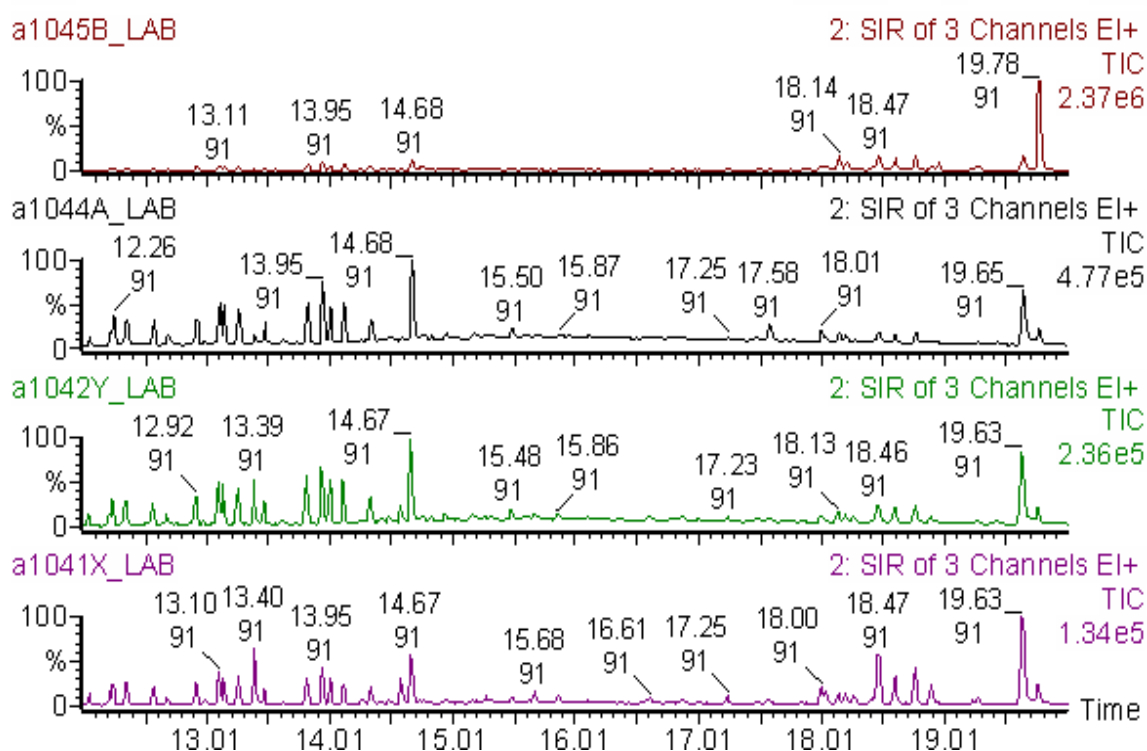
4-C₁₂**5-C₁₂****6-C₁₂****1-C₁₃****2-C₁₃****3-C₁₃****4-C₁₃****5-C₁₃****6-C₁₃****1-C₁₄**



ANEXO E – CROMATOGRAMA DO PADRÃO DE CAFEÍNA NO MODO SCAN



ANEXO F – CROMATOGRAMAS REFERENTE AOS TESTEMUNHOS #2 FÉLIX (41-43 cm), #2 FÉLIX (21-23 cm), #3 GERERÊS (1-3 cm) E #3 GERERÊS (69-71 cm), RESPECTIVAMENTE, ANALISADOS PARA A FRAÇÃO 1 (LABs) NO MODO SIM



ANEXO G – CROMATOGRAMAS REFERENTE AOS TESTEMUNHOS #11 BENITO (9-11 cm), #12 GUAPICUM (49-51 cm), #12 GUAPICUM (29-31 cm), #12 GUAPICUM (19-21 cm) e #12 GUAPICUM (9-11 cm), RESPECTIVAMENTE, ANALISADOS PARA A FRAÇÃO 3 (ESTERÓIDES E CAFEÍNA) NO MODO SCAN

