

Capítulo 5

Identificação e Utilização de Biomarcadores Moleculares para Caracterização de Óleo Derramado em Manguezais

5.1. Introdução

Uma das grandes dificuldades na avaliação da extensão dos danos de derramamentos de petróleo e/ou derivados no ambiente é, sem dúvida, o intemperismo. A evaporação, fotooxidação, biodegradação, entre outros processos, podem mascarar a distribuição de hidrocarbonetos no sedimento, dificultando a identificação do produto derramado. Uma ferramenta que vem sendo muito utilizada na avaliação ambiental de acidentes envolvendo petróleo e derivados são os biomarcadores.

Biomarcadores são compostos orgânicos que possuem uma fonte específica e estabilidade molecular, mantendo a assinatura de origem (Simoneit, 1984). A sua utilização é de grande importância na identificação da origem de depósitos petrolíferos e a evolução de derramamentos no ambiente, pois possuem informações relevantes que podem caracterizar o óleo, além de avaliar o grau de intemperismo do produto no ambiente.

Entre os biomarcadores, os hopanos, terpanos e esteranos têm sido utilizados em estudos ambientais em função da sua alta resistência à degradação (Volkman *et al.*, 1983; Chosson *et al.*, 1992; Moldowan *et al.*, 1992). Suas moléculas possuem peso molecular entre $\pm 250 - 500$ u.m.a. e tem alta concentração relativa no petróleo (Hauser *et al.*, 1999).

Alguns exemplos da utilização de hopanos, terpanos e esteranos podem ser citados. Em estudo realizado por Grossi *et al.* (2002), a concentração de hidrocarbonetos foi determinada em função do tempo e profundidade do sedimento. O uso do $17\alpha(H),21\beta(H)C_{30}$ hopano como padrão interno possibilitou distinguir a fração de hidrocarbonetos que foi biodegradada. Ou seja, como é um composto de difícil degradação, e levando em consideração o tempo estimado para um estudo relativo a possível degradação do óleo decorrente do derrame, utiliza-se esse composto para avaliar o grau de

degradação desse óleo. Pois utilizando apenas os valores absolutos dos compostos teremos na realidade, a estimativa da diminuição das concentrações por diversos processos e, com o biomarcador como padrão interno pode-se quantificar apenas a degradação.

Hauser *et al.* (1999) identificou 18 hopanos e 14 esteranos, utilizando-os para calcular vários índices de biomarcadores. Esses índices fornecem características do óleo, podendo auxiliar na identificação do óleo derramado e a sua presença ou não no ambiente.

Neste estudo pretende-se analisar os compostos diterpanos, hopanos e esteranos como uma ferramenta para identificar a possível presença do óleo derramado em manguezais da baía de Guanabara.

5.2. Área de Estudo

A descrição da área de estudo já foi realizada no Capítulo 3.

5.3. Metodologia

5.3.1. Metodologia de Amostragem

Como para o estudo dos hidrocarbonetos, foram fixadas duas estações de coleta nos manguezais do Suruí e Nova Orleans, a primeira na floresta de franja e outra, distante cerca de 100 m, em direção ao interior do manguezal. Estas duas estações foram selecionadas uma vez que sofreram impacto do derramamento de óleo MF380 em janeiro de 2000.

No manguezal de Piedade, considerado como controle, uma vez que aparentemente não foi atingido pelo derramamento de 2000 (UFRJ *et al.*, 2000), foi amostrada apenas uma estação, a mais próxima da franja à Baía de Guanabara.

Em cada estação foram obtidos 6 testemunhos, sendo 2 no ponto central, 2 distantes 10m, para cada lado, do ponto central, e, finalmente, mais 2 a 20 m do ponto central. Esta distribuição foi paralela à margem do manguezal na Baía de Guanabara.

Os testemunhos foram retirados com tubos de alumínio de 7 cm de diâmetro que foram enterrados e com o auxílio de um pistão, amostrando cerca de 1 m de coluna sedimentar.

As amostragens foram realizadas anualmente, totalizando cinco amostragens, sendo assim distribuídas: novembro de 2000, setembro de 2001, setembro de 2002, setembro de 2003 e setembro de 2004, resultando em 264 amostras de sedimento.

5.3.2. Metodologia de Análise

5.3.2.1. Hopanos e Esteranos

Ao chegar no laboratório, os testemunhos foram seccionados da seguinte maneira: a 1ª camada (camada superficial) com 3 cm de espessura, as camadas seguintes foram cortadas, a partir da 1ª, de 5 em 5 cm até 38 cm de profundidade (camada 9). A partir desta, as camadas foram seccionadas a cada 10 cm. Geralmente os testemunhos coletados proveram cerca de 13 camadas (88 cm).

As camadas correspondentes dos 5 testemunhos obtidos em cada estação foram homogeneizadas para a formação de amostras compostas para as análises dos biomarcadores.

Para a extração nos sedimentos foi utilizado o método EPA 3540C, onde foram pesados cerca de 12g de sedimento úmido, misturado com aproximadamente 30 g de sulfato de sódio anidro para a retirada de água.

Para o controle da recuperação de todo o procedimento analítico para a determinação de hidrocarbonetos alifáticos, utilizou-se padrões deuterados $nC_{16}D_{34}$ e $nC_{30}D_{62}$ como subrogados, que foram adicionados às amostras, no início do processamento.

A extração dos hidrocarbonetos das amostras de sedimento foi realizada em Soxhlet por 24 horas com uma mistura de diclorometano-acetona (1:1, V/V). O volume do extrato foi reduzido em evaporador rotatório, efetuando-se a troca de solvente para n-hexano, antes do fracionamento por cromatografia líquida.

O extrato já concentrado (próximo a 1 mL) foi fracionado em uma coluna de vidro com 1,3 cm de diâmetro contendo 11 g de sílica e 1 g de alumina (5 %, p/v, desativada). A fração de hidrocarbonetos saturados (F1) que contém os n-alcenos, os hopanos e esteranos, foi eluída com hexano, concentrada em evaporador rotatório, avolumada e dividida em duas partes iguais. Uma foi avolumada a 1 mL e analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) para a determinação dos hopanos e esteranos utilizando-se o Pregnano d_4 como padrão interno.

As análises foram realizadas em um equipamento tipo “íon-trap”, marca Thermo Finnigan, modelo Polaris Q, com um cromatógrafo Trace 2000. Utilizou-se uma coluna J&W DB5ms-HSD, de 30 m, 0,25 mm e filme de 0,25 μm . As condições analíticas foram:

CG:

50 °C → 5min;

50 °C min^{-1} até 80 °C 6 °C min^{-1} até 280 °C, permanecendo à esta temperatura por 25 minutos.

MS Polaris Q:

Full scan → 55-500 u.m.a.

Fonte → 175 °C

Scan time → 0,48 seg

Energia do feixe de elétrons → 30 eV

Corrente de emissão → 250 A

O equipamento foi calibrado com soluções de diferentes concentrações dos padrões $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})\text{C}_{30}$ hopano, $\alpha\alpha\alpha20\text{S}$ Colestano (Chiron) em hexano e, utilizando-se a fração de hidrocarbonetos saturados de um óleo iraniano leve, como padrão, para determinar o tempo de retenção e o espectro de massas dos principais homólogos da série madura dos hopanos, dos diterpanos tricíclicos e tetracíclicos e dos esteranos. Os diterpanos e os hopanos, total de 32 compostos, foram todos determinados utilizando-se o meso fator de resposta do $17\alpha,21\beta(\text{H})\text{C}_{30}$ hopano, enquanto os esteranos, 14 compostos,

foram determinados pelo fator de resposta do $\alpha\alpha\alpha$ 20S Colestano. Foi utilizado como padrão interno o Pregnano-d4. A lista dos compostos com suas nomenclaturas está apresentada na Tabela 5.1.

A literatura mostra que a análise de hopanos e esteranos é normalmente realizada utilizando equipamento com analisador magnético ou quadrupolos (Peters & Moldowan, 1993; Douglas *et al.*, 1996; Munoz *et al.*, 1997; Hauser *et al.*, 1999; Yunker *et al.*, 2003; Dahl, 2004; Burns *et al.*, 2004; Colombo *et al.*, 2005; Boonyatumanond *et al.*, 2006). O problema é que com as condições normais de ionização, o espectro de massa de hopano obtido em um espectrômetro de massa tipo íon-trap não possibilita a identificação devido à baixa sensibilidade apresentada para o íon molecular, o M-15 e o m/z 369, relativo à perda da cadeia hidrocarbônica ligada ao carbono 21.

Observou-se que, com o decréscimo da temperatura da fonte de íons e da energia de ionização, foi possível melhorar a intensidade relativa do íon molecular, do M-15]⁺ e do m/z 369, porém, ao contrário do que deveria se esperar, a intensidade absoluta do espectro aumentou, melhorando a detectabilidade do sistema para a análise de biomarcadores moleculares, tipo hopanos.

Após vários testes otimizou-se o sinal dos íons a uma temperatura de 175 °C e energia de ionização igual a 30 eV. Sob estas condições, pôde-se observar um aumento na intensidade do sinal de 384 % do íon 369 e 374 % do íon 397, em relação às intensidades medidas utilizando as condições padrão para a determinação no quadrupolo.

As figuras a seguir apresentam os espectros de massa obtidos nas condições normais de funcionamento do detector íon-trap (Figura 5.1), e nas otimizadas, mais adequadas para a análise de hopanos neste mesmo detector (Figura 5.2) e em um detector quadrupolo (Figura 5.3).

Tabela 5.1 - Nomenclatura dos diterpanos, hopanos e esteranos identificados.

	Nomenclatura	Nome
1	C19_Triciclico	Tricíclico (C ₁₉)
2	C20_Triciclico	Tricíclico (C ₂₀)
3	C21_Triciclico	Tricíclico (C ₂₁)
4	C22_Triciclico	Tricíclico (C ₂₂)
5	C23_Triciclico	Tricíclico (C ₂₃)
6	C24_Triciclico	Tricíclico (C ₂₄)
7	C25_Triciclico	Tricíclico (C ₂₅)
8	C26_Triciclico a	Tricíclico (C ₂₆)a
9	C26_Triciclico b	Tricíclico (C ₂₆)b
10	C2713b17a_20S	13 β ,17 α diacolestano 20S
11	C2713b17a_20R	13 β ,17 α diacolestano 20R
12	C28_Triciclico a	Tricíclico (C ₂₈)a
13	C28_Triciclico b	Tricíclico (C ₂₈)b
14	C27aaa_S	5 α ,14 α ,17 α colestano 20S
15	C29_Triciclico a	Tricíclico (C ₂₉)a
16	C27abb_R	5 α ,14 β ,17 β colestano 20R
17	C27abb_S	5 α ,14 β ,17 β colestano 20S
18	C29_Triciclico b	Tricíclico (C ₂₉)b
19	C27aaa_R	5 α ,14 α ,17 α colestano 20R
20	Ts	22,29,30-Trisnorhopano-II
21	C28aaa_S	5 α ,14 α ,17 α ergostano 20S
22	C28abb_R	5 α ,14 β ,17 β ergostano 20R
23	Tm	22,29,30 Trisnorhopano
23	C30_Triciclico a	Tricíclico (C ₃₀)a
25	C28abb_S	5 α ,14 β ,17 β ergostano 20S
26	C28aaa_R	5 α ,14 α ,17 α ergostano 20R
27	C29aaa_S	5 α ,14 α ,17 α estigmastano 20S
28	C30_Triciclico b	Tricíclico (C ₃₀)b
29	C29abb_R	5 α ,14 β ,17 β estigmastano 20R
30	C29abb_S	5 α ,14 β ,17 β estigmastano 20S
31	C29aaa_R	5 α ,14 α ,17 α estigmastano 20R
32	C29_Hop	17 α , 21 β (H)-30 norhopano
33	M29	17 β , 21 α (H)-30 norhopano (normoretano)
34	C30_Hop	17 α , 21 β (H)-30 hopano
35	M30	17 β 21 α (H) hopano (moretano)
36	C31_Hop_S	17 α , 21 β (H)-29 homohopano 22s
37	C31_Hop_R	17 α , 21 β (H)-29 homohopano 22R
38	GAM	Gamacerano
39	C32_Hop_R	17 α , 21 β (H)-29 bishomohopano 22R
40	C32_Hop_S	17 α , 21 β (H)-29 bishomohopano 22S
41	C33_Hop_S	17 α , 21 β (H)-29 trishomohopano 22S
42	C33_Hop_R	17 α , 21 β (H)-29 trishomohopano 22R
43	C34_Hop_S	17 α , 21 β (H)-29 tetrakishomohopano 22S
44	C34_Hop_R	17 α , 21 β (H)-29 tetrakishomohopano 22R
45	C35_Hop_S	17 α , 21 β (H)-9 pentakishomohopano 22S
46	C35_Hop_R	17 α , 21 β (H)-29 pentakishomohopano 22R

A partir das figuras, nota-se uma grande semelhança entre os espectros das figuras 5.1 e 5.3, o que já não se vê na Figura 5.2. Isso demonstra que ao configurar o detector íon-trap nas condições otimizadas, além de se promover um aumento das intensidades dos íons produzidos, também foi obtido um espectro mais semelhante ao quadrupolo. Este fato é muito importante na comparação de espectros com os presentes na literatura, uma vez que, conforme já destacado, todos os trabalhos até agora publicados obtiveram espectros com detectores quadrupolo.

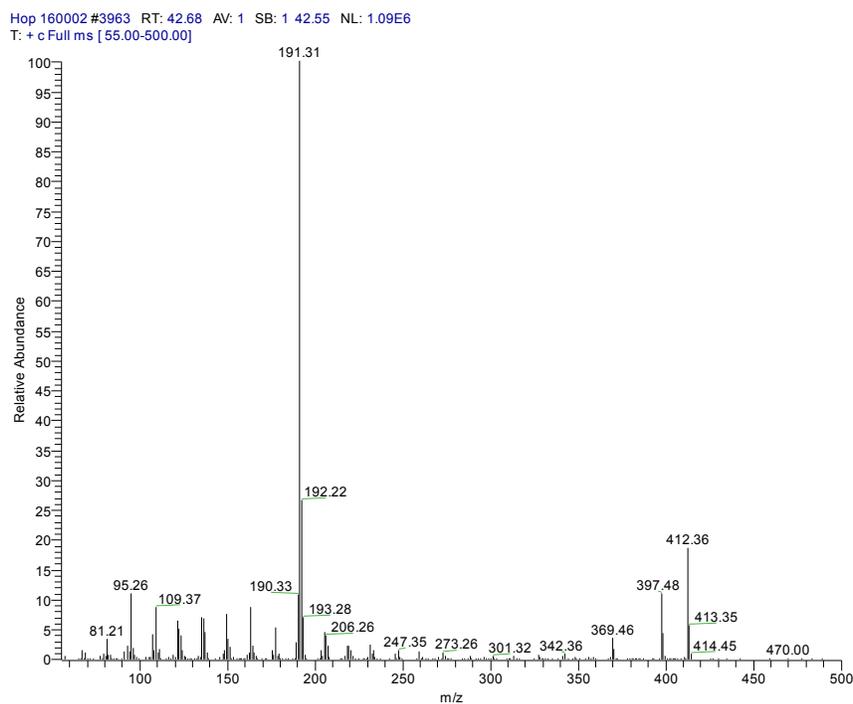


Figura 5.1 - Espectro de Massa do $17\alpha(H)$, $21\beta(H)C_{30}$ -hopano obtido de uma solução do padrão de hopano com concentração de 1.600 ng mL^{-1} . Equipamento: Finnigan Ion-Trap Polaris Q. Energia de ionização: 30 eV e fonte a $175 \text{ }^\circ\text{C}$.

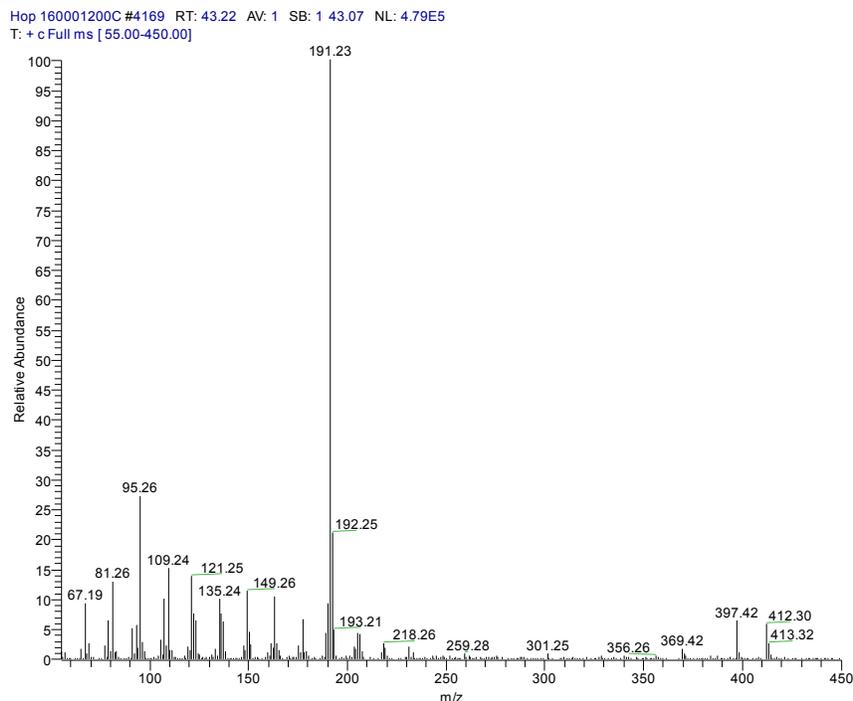


Figura 5.2: Espectro de Massa do $17\alpha(H)$, $21\beta(H)C_{30}$ -hopano obtido de uma solução do padrão de hopano com concentração de 1.600 ng mL^{-1} . Equipamento: Finnigam Ion-Trap Polaris Q.– Energia de ionização: 70 eV e fonte a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ (condições usuais de funcionamento).

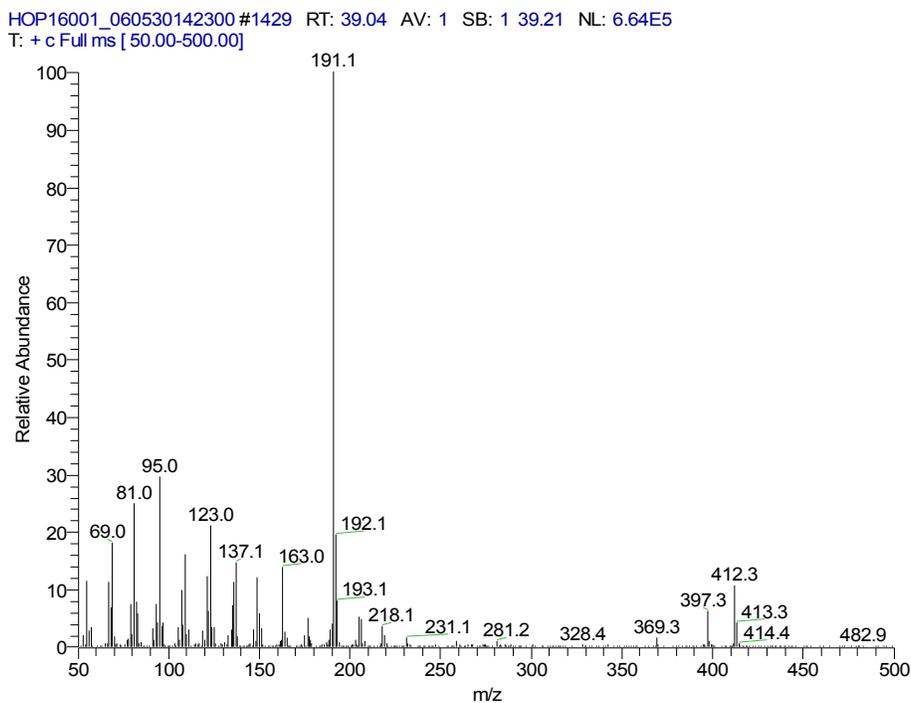


Figura 5.3 - Espectro de Massa do $17\alpha(H)$, $21\beta C_{30}$ Hopano obtido de uma solução do padrão de hopano com concentração de 1.600 ng mL^{-1} . Equipamento: Finnigam Quadrupolo DSQ. Energia de ionização: 70 eV e fonte a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ (condições usuais de funcionamento).

As figuras 5.4, 5.5 e 5.6 apresentam mais um exemplo da semelhança entre espectros obtidos no detector ion-trap (nas condições otimizadas e normais) e quadrupolo. Nos dois equipamentos foi injetada uma solução da fração de hidrocarbonetos saturados de um petróleo iraniano leve, onde vê-se o espectro do composto C_{29} 17α , $21\beta(H)$ hopano. Conforme pode-se observar, a intensidade do íon m/z 398 é a mesma nos dois equipamentos.

O mesmo pode ser observado nas Figuras 5.7, 5.8 e 5.9, onde estão apresentados os espectros do composto C_{31} 17α , $21\beta(H)(22S)$ hopano, da mesma solução da fração de hidrocarbonetos saturados de um óleo iraniano leve obtida nos dois tipos de espectrômetro de massa (íon-trap e quadrupolo), onde observa-se uma intensidade semelhante do íon m/z 426.

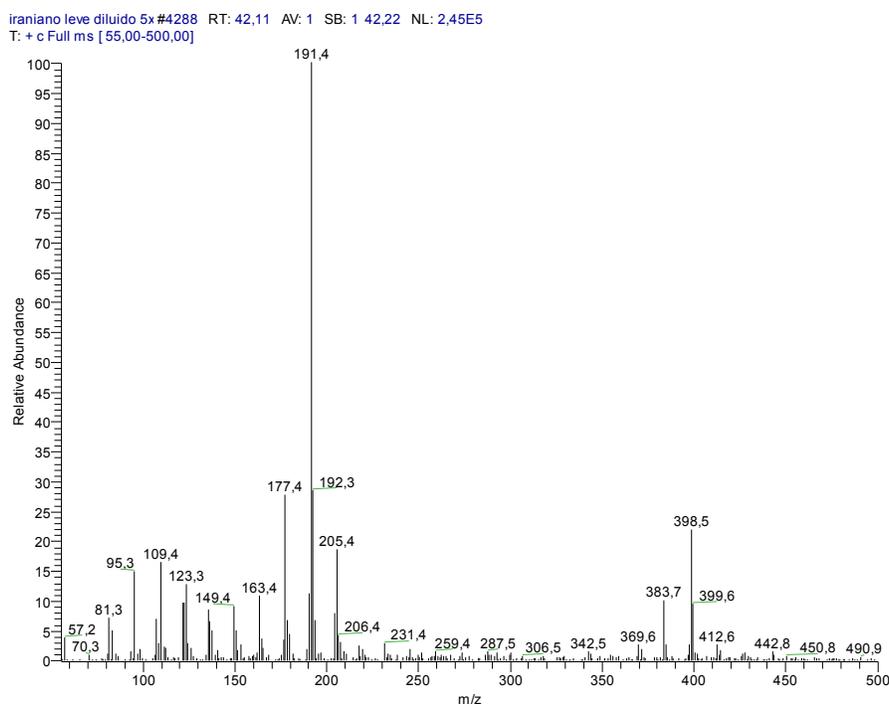


Figura 5.4 – Espectro de massa do C_{29} 17α , $21\beta(H)$ hopano obtido com detector do tipo Íon-Trap. Condições: energia de ionização - 30eV e fonte a 175°C. Fração de hidrocarbonetos saturados de um petróleo iraniano leve.

F1 Iraniano leve #4508 RT: 42.01 AV: 1 SB: 1 41.92 NL: 1.90E5
T: + c Full ms [55.00-450.00]

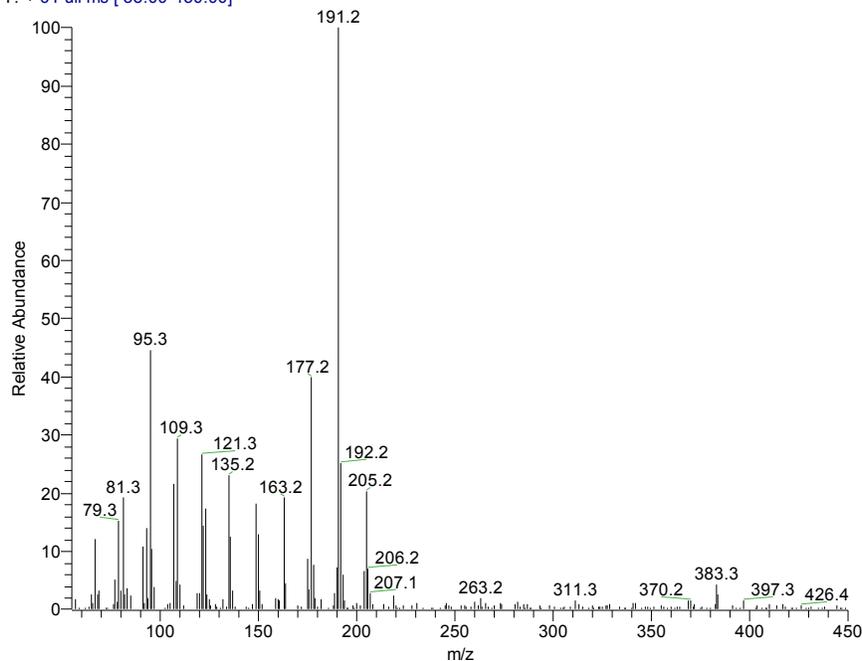


Figura 5.5 – Espectro de massa do C₂₉ 17 α , 21 β (H) hopano obtido com detector do tipo Íon-Trap. Condições: energia de ionização - 70eV e fonte a 200°C. Fração de hidrocarbonetos saturados de um petróleo iraniano leve.

F1_IranianoL_5x_02 #1383 RT: 37.86 AV: 1 SB: 1 38.01 NL: 2.26E6
T: + c Full ms [50.00-500.00]

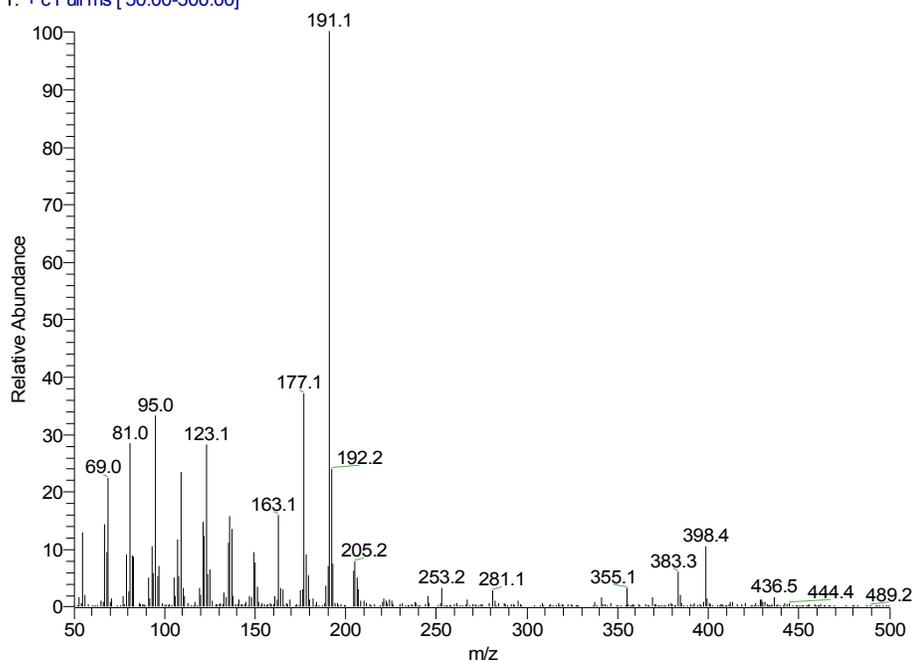


Figura 5.6 - Espectro de massa do C₂₉ 17 α , 21 β (H) hopano obtido com detector do tipo Quadrupolo DSQ (Finnigan). Energia de ionização: 70 eV e fonte a 200 °C (condições usuais de funcionamento). Fração de hidrocarbonetos saturados de um petróleo iraniano leve.

iraniano leve diluido 5x#4674 RT: 45.32 AV: 1 SB: 1 45.44 NL: 1.03E5
T: + c Full ms [55,00-500,00]

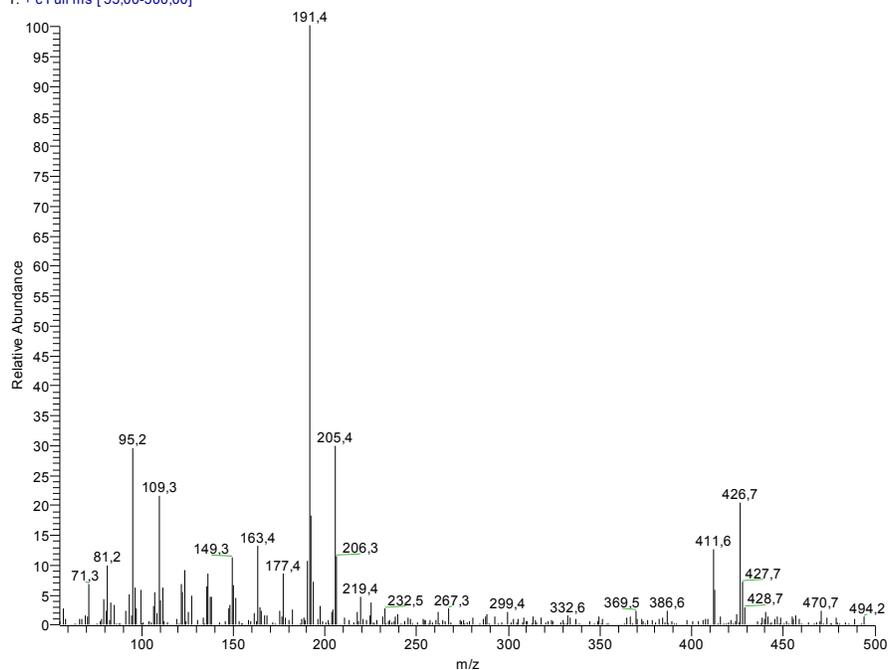


Figura 5.7 - Espectro de massa do C_{31} 17 α , 21 β (H)(22S) hopano obtido com detector do tipo Íon-Trap. Condições: energia de ionização 30eV e fonte a 175°C. Fração de hidrocarbonetos saturados de um petróleo Iraniano leve.

F1 Iraniano leve #4971 RT: 45.59 AV: 1 SB: 1 45.44 NL: 1.13E5
T: + c Full ms [55,00-450,00]

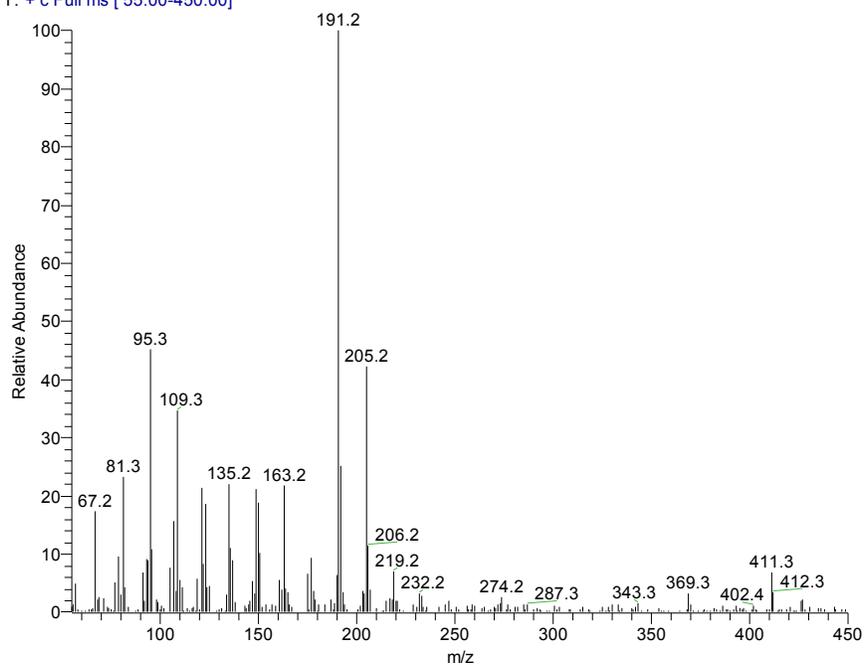


Figura 5.8 - Espectro de massa do C_{31} 17 α , 21 β (H)(22S) hopano obtido com detector do tipo Íon-Trap. Condições: energia de ionização 70eV e fonte a 200°C. Fração de hidrocarbonetos saturados de um petróleo Iraniano leve.

F1_IranianoL_5x_02 #1511 RT: 40.63 AV: 1 SB: 1 40.74 NL: 1.05E6
T: + c Full ms [50.00-500.00]

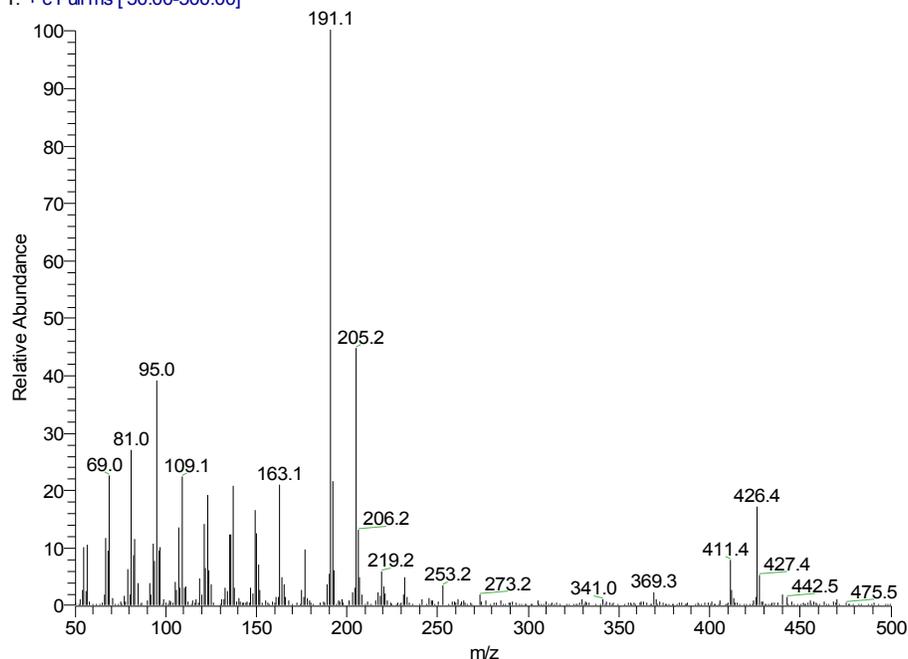


Figura 5.9 - Espectro de massa do C₃₁ 17 α , 21 β (H)(22S) hopano obtido com detector do tipo Quadrupolo (Finnigan). Energia de ionização: 70 eV e fonte a 200 °C (condições usuais de funcionamento). Fração de hidrocarbonetos saturados de um petróleo Iraniano leve.

5.4. Resultados e Discussão

As tabelas que contém as concentrações dos 14 esteranos e 32 diterpanos e hopanos identificados e quantificados nas amostras de sedimento estão no Anexo 1.

Nas amostras de sedimento analisadas houve o predomínio do C₃₀ hopano seguido do C₂₉ hopano, nas áreas que foram afetadas pelo derrame de óleo, como é o caso dos manguezais de Suruí e Nova Orleans. Já que é característico da maioria dos óleos o predomínio desses compostos. Na camada superficial em Suruí o C₃₀-hopano chegou a alcançar um valor de 6586 ng g⁻¹.

No manguezal de Piedade, em todas as amostragens, as concentrações obtidas para a maioria dos compostos diterpanos e hopanos foram menores que o limite de quantificação (16 ng g⁻¹). Este fato é um forte indicativo da ausência de grandes quantidades de petróleo e/ou derivados neste ambiente e,

portanto, corrobora a informação que não houve impacto direto do derramamento de óleo de 2000 sobre este manguezal.

Medeiros *et al.*, 2004a encontrou altas concentrações de hopanos em amostras de sedimento do infralitoral da baía de Santos, região essa impactada por petróleo, onde os valores de C₃₀ hopano chegaram a atingir 604,3 ng g⁻¹. Já em outra região (no canal de São Sebastião), o mesmo autor obteve valores do C₃₀ hopano entre 31,2 e 118,5 ng g⁻¹, local este onde o predomínio dos compostos é de origem biogênica, mas com a presença de material petrogênico. Esses resultados estão dentro da faixa de concentração de C₃₀ hopano encontrados no manguezal de Nova Orleans, que foi atingido parcialmente pelo óleo, onde a variação observada foi de 16 a 326 ng g⁻¹ e, no manguezal de Piedade, que apresentou uma variação entre 16 e 75,0 ng g⁻¹. Já o manguezal de Suruí mostrou uma grande variação (16 a 10545 ng g⁻¹), apresentando elevados valores de concentração, típicos de ambientes contaminados.

Em relação à distribuição dos hopanos, observa-se que sempre os compostos **S** apresentaram concentrações superiores aos seus correspondentes **R**. Este comportamento é citado por Peter & Moldowan (1993), onde os compostos **S** tem uma maior contribuição do que os compostos **R** na composição final do óleo. Também houve um decréscimo das concentrações dos hopanos com o aumento do peso molecular, ou seja, C₃₁ > C₃₂ > C₃₃ > C₃₄ > C₃₅, o que já foi observado por Wang *et al.* (1995) quando há a ausência do 25 norhopano. No presente estudo não foi verificada a presença do 25 norhopano, já que este composto é resultante da biodegradação do C₃₀ hopano e na escala de tempo que estamos estudando essa degradação é difícil de ocorrer. Esta escala de degradação é sugerida também por Peter & Moldowan (1993), onde o ataque microbiano é mais efetivo nos compostos hopanos mais pesados.

Munoz *et al.* (1997), ao analisar amostras de sedimento do manguezal contaminado com petróleo Árabe Leve em Guadalupe, também encontrou esta tendência de degradação dos hopanos.

As Figuras 5.10, 5.11 e 5.12 a seguir mostram a distribuição dos marcadores moleculares (hopanos e esteranos) no óleo MF380 (derramado no

acidente de 2000) e em amostras de sedimento da camada superficial do manguezal do Suruí (área mais atingida pelo acidente) obtidas na 1ª e 5ª coleta. Observa-se que o perfil da amostra coletada na 1ª amostragem (Figura 5.11) é muito semelhante ao do óleo derramado. Já na Figura 5.12, referente à amostra de sedimento obtida na última amostragem (4 anos após o derrame), já existem sinais claros de degradação de alguns compostos, principalmente os esteranos e os hopanos $C_{34_hop_S}$, $C_{34_hop_R}$, $C_{35_hop_S}$ e $C_{35_hop_R}$.

Nos outros dois manguezais (Nova Orleans e Piedade) não é possível a visualização do mesmo perfil do óleo, o que, mais uma vez, comprova a baixa ou ausência (como é o caso de Piedade) da influência do derrame nesses ambientes.

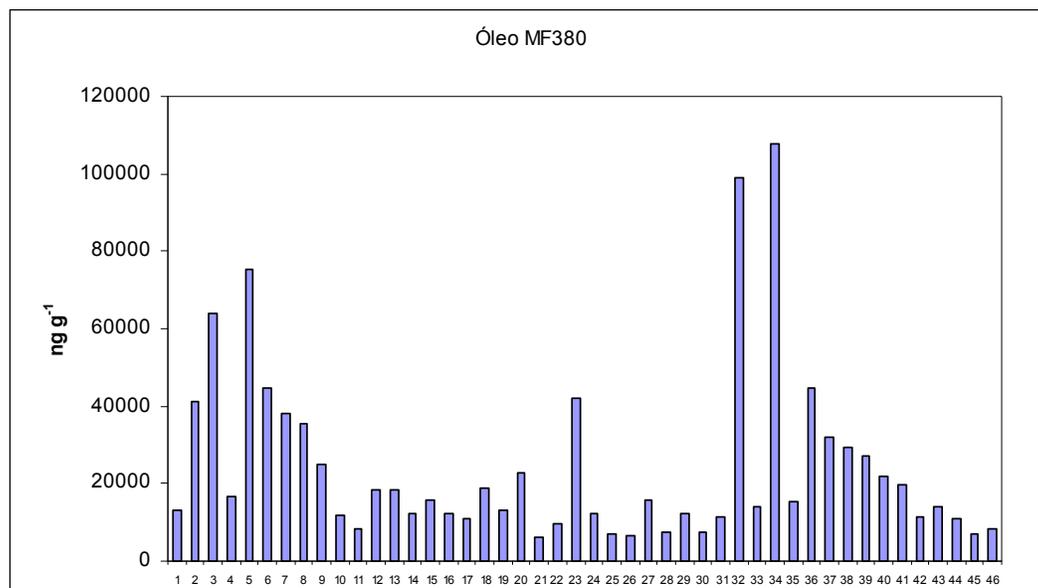


Figura 5.10 – Distribuição dos marcadores moleculares no óleo MF380, onde os números do eixo X representam os compostos identificados na Tabela 5.1.

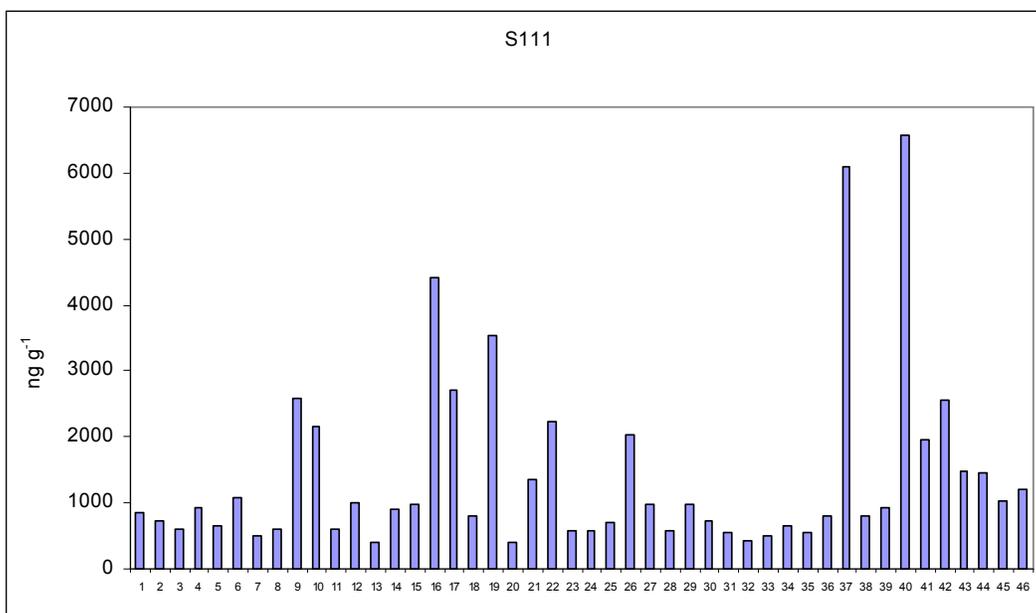


Figura 5.11 – Distribuição dos marcadores moleculares no manguezal do Suruí para a amostra superficial coletada na 1ª amostragem, onde os números do eixo X representam os compostos identificados na Tabela 5.1.

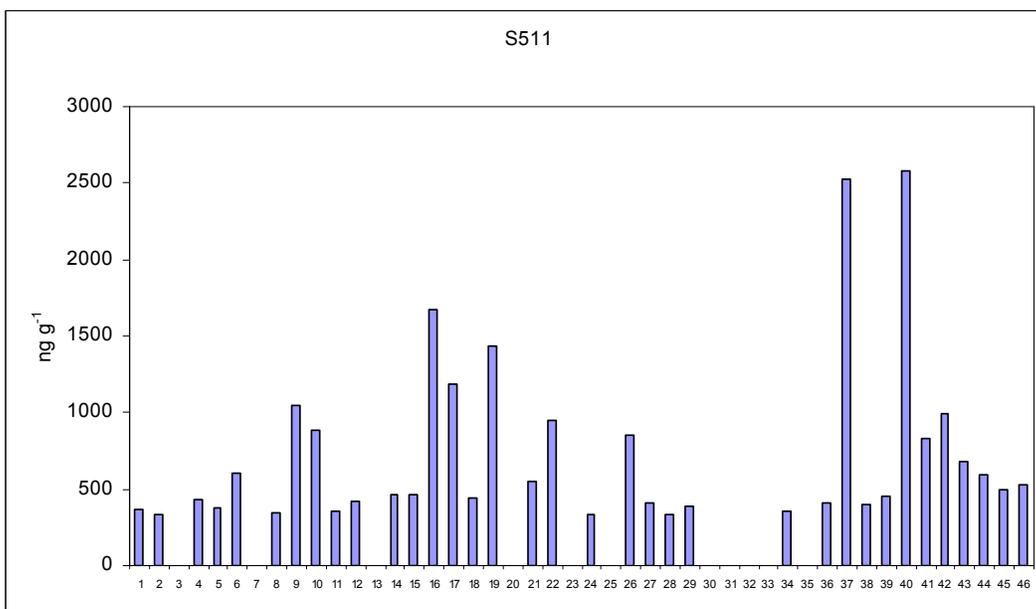


Figura 5.12 – Distribuição dos marcadores moleculares no manguezal do Suruí para a amostra superficial coletada na 5ª amostragem, onde os números do eixo X representam os compostos identificados na Tabela 5.1.

Cada óleo possui características próprias, onde a relação entre os compostos é única, o que permite a sua identificação e presença no ambiente através dessas razões.

Neste estudo foram calculadas as razões T_m/T_s , C_{23}/C_{24} , C_{29}/C_{30} , C_{23}/C_{30} , C_{24}/C_{30} , $C_{31S}/(S+R)$, $C_{32S}/(S+R)$, $C_{33S}/(S+R)$, C_{27abb}/C_{29abb} , $C_{28abb}/(abb+aaa)$, $C_{29abb}/(abb+aaa)$ para a avaliação da degradação do óleo e a sua permanência nos sedimentos dos manguezais.

Analisando as razões calculadas de hopanos e esteranos do óleo e relacionando-as com as obtidas para as amostras de sedimento dos manguezais, pode-se detectar a presença do óleo derramado em todas as amostras superficiais de sedimento do manguezal de Suruí, como mostra a Tabela 5.2. Destaque para a camada 6 (28 cm), coletada na última amostragem, ou seja, 4 anos após o derrame, onde ainda são encontrados vestígios do óleo derramado em 2000. A infiltração do óleo para camadas mais profundas é muito comum em ambientes com baixo hidrodinamismo, com alta salinidade e rico em matéria orgânica (Jacobi & Schaeffer-Novelli, 1990) e que também está sujeito à atividade dos caranguejos que ali vivem.

Tabela 5.2 - Razões de hopanos e esteranos calculadas para as amostras superficiais coletadas na 1ª amostragem e para o óleo MF380.

Relações	S111	NO111	P111	Óleo MF380
T_m/T_s	2,40	1,64	2,14	2,09
C_{23}/C_{24}	1,64	1,49	-	1,75
C_{29}/C_{30}	0,93	1,08	1,16	0,89
C_{23}/C_{30}	0,67	1,02	0,28	0,70
C_{24}/C_{30}	0,41	0,69	-	0,40
$C_{31S}/(S+R)$	0,57	0,50	0,38	0,59
$C_{32S}/(S+R)$	0,55	0,60	-	0,56
$C_{33S}/(S+R)$	0,57	0,63	-	0,65
C_{27abb}/C_{29abb}	1,10	-	-	1,25
$C_{28abb}/(abb+aaa)$	0,52	-	-	0,59
$C_{29abb}/(abb+aaa)$	0,44	-	-	0,40

Aplicando as mesmas razões no manguezal de Piedade, os valores indicam a ausência do óleo derramado em 2000 nesse ambiente

Outro ponto importante a ser destacado nos resultados de hopanos e esteranos (Tabelas – Anexo 1) é que a partir da segunda coleta, um ano após o acidente, tanto no manguezal do Suruí como em Nova Orleans, já foi notada a ausência, em grande parte das amostras, de alguns esteranos, justificando a sua maior degradabilidade em relação aos hopanos.

Os esteranos são mais suscetíveis à degradação que os hopanos (Peter & Moldowan, 1993). Observando a série de compostos dos esteranos, pode-se ver que a tendência de degradação do presente estudo é de $\alpha\alpha\alpha 20S > \alpha\beta\beta 20S > \alpha\beta\beta 20R > \alpha\alpha\alpha 20R$. Já Hauser *et al.* (1999) sugere uma outra tendência de degradação: $\alpha\alpha\alpha 20R > \alpha\alpha\alpha 20S > \alpha\beta\beta 20R > \alpha\beta\beta 20S$. Munoz *et al.* (1997) em seu estudo no manguezal contaminado com óleo Árabe Leve a seqüência de degradação dos esteranos apresentada também foi distinta à obtida para os manguezais da baía de Guanabara: $\alpha\alpha\alpha 20R > \alpha\beta\beta 20 (R+S) > \alpha\alpha\alpha 20S$, confirmando a biodegradação em função da sua estequiometria.

A degradabilidade de um dado componente do petróleo não é só função de sua estrutura, mas, como sugeriu Sugiura *et al.* (1997) ela irá diferir de estudo para estudo, de acordo com a composição do óleo cru, porque diferentes componentes podem induzir a atividade de diferentes espécies microbianas.

Em se tratando do ambiente manguezal, como é o nosso caso, além da ocorrência de várias espécies microbianas, existem importantes forças físicas que atuam intensamente, favorecendo a remoção e/ou degradação do óleo derramado.

Estudos publicados têm mostrado que a diminuição da razão Tm/Ts está associada à processos de fotodegradação do óleo (Jacquot *et al.*, 1996; Munoz *et al.*, 1996). Analisando os dados, nota-se um decréscimo na razão Tm/Ts nas amostras superficiais do manguezal de Suruí a cada amostragem realizada, variando de 2,4 (campanha 1) a 1,7 (campanha 5). No manguezal de Nova Orleans a variação observada foi de 1,64 a 1,89, apresentando um aumento nessa razão, com isso não se encontram evidências de fotodegradação.

A diminuição da razão C₂₃/C₃₀-hopano também indica a maior taxa de degradação do composto mais leve, em relação ao mais pesado, que é de

mais difícil degradação. Esta queda foi observada a partir da 3ª amostragem no manguezal de Suruí em todas as camadas analisadas. Em Nova Orleans foi observada uma diminuição dessa relação até a 3ª amostragem.

De acordo com os dados obtidos a contaminação no manguezal de Suruí é clara, onde a presença do óleo pode ser notada. Em Nova Orleans, essa evidência já não é tão acentuada, o que sugere uma pequena contribuição do derrame na contaminação. No manguezal de Piedade não foram encontrados vestígios do óleo derramado, caracterizando a região como não contaminada em relação ao acidente de 2000.

5.5. Conclusões

De uma forma geral, a análise dos hopanos permitiu a identificação do óleo derramado nos manguezais e o acesso à degradação do mesmo durante o período estudado.

Pôde-se afirmar que, após 4 anos do acidente, ainda é notada a presença do óleo MF380 no manguezal de Suruí, inclusive em camadas mais profundas, enquanto que em Nova Orleans essa presença já não é evidenciada.

Comparando o perfil do óleo derramado com as amostras superficiais do manguezal de Suruí na 1ª e 5ª amostragens, pode-se observar a semelhança entre os perfis, porém o obtido na última amostragem indica o processo de degradação de alguns compostos, principalmente os esteranos e os hopanos C_{34_S}, C_{34_R}, C_{35_S} e C_{35_R}.

A ordem de degradação encontrada para os hopanos foi coincidente com as propostas pela literatura, ocorrendo o aumento da degradação dos compostos com o aumento do peso molecular, ou seja, seguindo a seqüência de degradação: C₃₅ > C₃₄ > C₃₃ > C₃₂ > C₃₁.

De acordo com os resultados da última amostragem já existem sinais claros de degradação de alguns compostos, principalmente os esteranos e os hopanos C_{34_hop_S}, C_{34_hop_R}, C_{35_hop_S} e C_{35_hop_R}.

5.6. Referências Bibliográficas

- Boonyatumanond, R.; Wattayakorn, G.; Togo, A.; Takada, H. 2006. Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine, and marine sediments in Thailand. *Marine Pollution Bulletin*, in press.
- Burns, K.A.; Greenwood, P.; Benner, R.; Brinkman, D.; Brunskill, G.; Codi, G.; Zagorskis, I. 2004. Organic biomarkers for tracing carbon cycling in the Gulf of Papua (Papua New Guinea). *Continental Shelf Research*, **24**: 2373–2394.
- Chosson, P.; Connan, J.; Dessort, D.; Lanau, C. 1992. In vitro biodegradation of steranes and terpanes: A clue to understanding geological situations. In: *Biological markers in sediments and petroleum*. (Eds) Moldowan, J.M.; Albrecht, P.; Philp, R.P. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J., p. 320-349.
- Colombo, J.C.; Barreda, A.; Bilos, C.; Cappelletti, N.; Migoya, M.C.; Skorupka, C. 2005. Oil spill in the Rio de la Plata estuary, Argentina: 2-hydrocarbon disappearance rates in sediments and soils. *Environmental Pollution*, **134**: 267–276.
- Dahl, B. 2004. The use of bisnorhopane as a stratigraphic marker in the Oseberg Back Basin, North Viking Graben, Norwegian North Sea. *Organic Geochemistry*, **35**: 1551–1571.
- Douglas, G.S.; Bence, A.E.; Prince, R.C.; McMillen, S.J.; Butler, E.L. 1996. Environmental stability of selected petroleum hydrocarbon source and weathering ratios. *Environmental Science & Technology*, **30**:2335-2339.
- EPA, Method 3540C: Soxhlet Extraction.
- Grossi, V.; Massias, D.; Stora, G.; Bertrand, J.-C. 2002. Burial, exportation and degradation of acyclic petroleum hydrocarbons following a simulated oil spill in bioturbated Mediterranean coastal sediments. *Chemosphere*, **48**: 947-954.
- Hauser, A.; Dashti, H.; Khan, Z.H. 1999. Identification of biomarker compounds in selected Kuwait crude oils. *Fuel*, **78**:1483-1488.

- Jacobi, C.M. and Schaeffer-Novelli, Y. 1990. Oil spill in mangroves: a conceptual model based on long-term field observations. *Ecological Modelling*, **52**: 53-59.
- Jacquot, F.; Doumenq, P.; Guiliano, M.; Munoz, D.; Mille, G. 1996. *In vitro* photooxidation of crude oil maltenic fraction: evolution of fossil biomarkers and polycyclic aromatic compounds. *Chemosphere*, **33**: 671-681.
- Medeiros, M.P.; Bicego, 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, M.P.; Bicego, 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.; Bicego, M.C.; Castelao, R.M.; Rosso, C.D.; Fillmann, G.; Zamboni, A.J. 2005. Natural and anthropogenic inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Environment International*, **31**: 77-87.
- Moldowan, J.M.; Sundararaman, P.; Salvatori, T.; Alajbeg, A.; Gjukic, B.; Lee, C.Y.; Demaison, G.J. 1992. Source correlation and maturity assessment of select oils and rocks from the Central Adriatic Basin (Italy and Yugoslavia). In: *Biological markers in sediments and petroleum*. (Eds) Moldowan, J.M.; Albrecht, P.; Philp, R.P. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J., p. 370-401.
- Munoz, D.; Doumenq, P.; Elhy, M.C.; Guiliano, M.; Jacquot, F.; Scherrer, P.; Mille, G. 1996. *In situ* evolution over an 8-year period in mangrove soil. Qualitative and quantitative analysis by high resolution GC/MS. *Polycyclic Aromatic Compounds*, **9**: 129-136.
- Munoz, D.; Guiliano, M.; Doumenq, P.; Jacquot, F.; Scherrer, P.; Mille, G. 1997. Long Term Evolution of Petroleum Biomarkers in Mangrove soil. *Marine Pollution Bulletin*, **34**(11): 868-874.
- Peters, K.E.; Moldowan, J.M. 1993. The biomarker guide. Interpreting molecular fossils in petroleum and ancient sediments. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 363p.

- Prince, R.C.; Elmendorf, D.L.; Lute, J. R.; Hsu, C.S.; Halth, C.E.; Senius, J.D., Dechert, G.J.; Douglas, G.S.; Butler, E.L. 1994. 17 α (H), 21 β (H)-Hopane as a Conserved Internal Marker for Estimating the Biodegradation of Crude Oil. *Environmental Science and Technology*, **28**: 142-145.
- Simoneit, B.R.T. 1984. Organic matter of the troposphere. III Characterization and sources of petroleum and pyrogenic residues in aerosols over the western United States. *Atmospheric Environment*, **18**: 51-67.
- Sugiura, K.; Ishihara, M.; Shimauchi, T.; Harayama, S. 1997. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. *Environmental Science and Technology*, **31**: 45-51.
- UFRJ; UERJ; PUC; UFF; PETROBRÁS. 2000. Caracterização preliminar do impacto do vazamento acidental de óleo ocorrido em 18/01/2000 na Baía de Guanabara. Relatório apresentado ao IBAMA. 51p.
- Volkman, J.K.; Alexander, R.; Kagi, R.I.; Noble, R.A.; Woodhouse, G.W. 1983. A geochemical reconstruction of oil generation in the Barrow Sub-basin of Western Australia. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **47**: 2091-2106.
- Yunker, M.B.; Backus, S.M.; Pannatier, E.G.; Jeffries, D.S.; Macdonald, R.W. 2002. Sources and Significance of Alkane and PAH Hydrocarbons in Canadian Arctic Rivers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **55**: 1-31.
- Yunker, M.B.; Macdonald, R.W. 2003. Petroleum biomarker sources in suspended particulate matter and sediments from the Fraser River Basin and Strait of Georgia, Canada. *Organic Geochemistry*, **34**: 1525–1541.
- Wang, Z.; Fingas, M. 1995. Differentiation of the source of spilled oil and monitoring of the oil weathering process using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **712**: 321-343.