



Fundação Universidade Federal do Rio Grande



PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA
FÍSICA - QUÍMICA - GEOLÓGICA

Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Física, Química e

Geológica

Laboratório de Microcontaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática



**Uso de esteróides na avaliação de aportes
antrópicos e naturais da matéria orgânica no Complexo
Estuarino de Paranaguá**

Juliana Aguilar Fuhrmann Braun

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Oceanografia Física, Química e Geológica.

Orientador: Dr. Gilberto Fillmann

Rio Grande

Maio 2006

Fundação Universidade do Rio Grande
Programa de Pós Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica
Laboratório de Microcontaminantes Orgânicos e Ecotoxicologia Aquática

Uso de esteróides na avaliação de aportes antrópicos e naturais da matéria orgânica no Complexo Estuarino de Paranaguá

Juliana Aguilar Fuhrmann Braun

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica da Fundação Universidade de Rio Grande, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Oceanografia Física, Química e Geológica.

Aprovada em ____/____/____

Prof. Dr. Gilberto Fillmann

Professor Doutor do Departamento de Oceanografia da Fundação
Universidade Federal de Rio Grande

Prof. Dr. César de Castro Martins

Professor Doutor da Universidade Federal do Paraná.

Prof.^a Dr. Mônica Wallner-Kersanach

Professora Doutora do Departamento de Química da Fundação Universidade
Federal de Rio Grande

AGRADECIMENTOS

Nestes últimos dois anos conheci muitas pessoas que contribuíram para que eu vencesse mais esta etapa de minha vida, por isso não posso deixar de agradecer:

A minha mãe e a minha avó pelo apoio e incentivo.

Ao meu marido pela dedicação, paciência e companheirismo.

Ao meu orientador Gilberto Fillmann, por todo ensinamento durante o este período.

A colega do CONECO e amiga Bianca, por toda ajuda na parte experimental e escrita.

Ao colega Rogério pela ajuda na montagem dos mapas.

Ao pessoal do CONECO, de onde vou sentir saudades.

Ao professor César Martins pela gentileza em nos “emprestar” os padrões e pela ajuda no decorrer do trabalho.

A professora Eunice Machado pelo auxílio com as dúvidas da área de estudo.

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

A minha chefe e amiga Walkyria pela compreensão e apoio.

As amigas Silvana, Clotilde e Joseline pelo incentivo, apoio e amizade.

A todos aqueles que não foram citados, mas que contribuíram para realização deste trabalho.

ÍNDICE

| | | |
|---------|---|----|
| 1. | Resumo | 1 |
| 2. | Abstract | 2 |
| 3. | Introdução | 3 |
| 4. | Esteróides | 5 |
| 5. | Objetivos | 12 |
| 6. | Área de estudo | 13 |
| 7. | Material e Métodos | 17 |
| 7.1 | Amostragem de sedimento..... | 17 |
| 7.2 | Análise de esteróides | 21 |
| 7.2.1 | Limpeza do material | 21 |
| 7.2.2 | Reagentes e Solventes..... | 21 |
| 7.2.3 | Metodologia analítica..... | 22 |
| 7.2.4 | Derivatização..... | 24 |
| 7.2.5 | Análise Instrumental | 25 |
| 7.2.5.1 | Determinação qualitativa dos esteróides | 28 |
| 7.2.5.2 | Determinação quantitativa dos esteróis | 28 |
| 7.3 | Análise de carbono orgânico..... | 32 |
| 7.3.1 | Limpeza da vidraria | 32 |
| 7.3.2 | Preparo das amostras | 32 |
| 7.3.3 | Descarbonatação das amostras | 32 |
| 7.3.4 | Análise Instrumental..... | 32 |
| 7.4 | Tratamento estatístico dos dados | 33 |
| 8. | Resultados | 34 |
| 8.1 | Carbono orgânico (C_{org}) e nitrogênio total (N_{total}) | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 8.2 Esteróides | 36 |
| 8.2.1 Grupo S (Agosto/2003)..... | 36 |
| 8.2.2 Grupo T (Fevereiro/2004) | 41 |
| 8.2.3 Grupo R (Novembro/2004) | 43 |
| 8.2.4 Grupo P (Dezembro/2004 e Janeiro/2005)..... | 45 |
| 8.3 Análise de componentes principais..... | 49 |
| 9. Discussão..... | 52 |
| 9.1 Avaliação da contaminação fecal no eixo leste-oeste (Baia de Paranaguá) | 53 |
| 9.2 Avaliação da contaminação fecal no eixo norte-sul (Baia de Laranjeiras) | 67 |
| 9.3 Avaliação origem da matéria orgânica biogênica no eixo leste-oeste (Baia de Paranaguá) | 70 |
| 9.4 Avaliação origem da matéria orgânica biogênica no eixo norte-sul (Baia de Laranjeiras) | 71 |
| 10. Conclusão | 73 |
| 11. Bibliografia..... | 75 |
| ANEXOS..... | 82 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Estrutura básica dos esteróides (Martins, 2001) | 6 |
| Figura 2 - Estrutura química dos principais esteróides (conforme listados na Tabela 1) (Carreira, 2000)..... | 8 |
| Figura 3 - Etapas de transformação do colesterol (Grimalt et al., 1990).. | 12 |
| Figura 4 - Complexo Estuarino de Paranaguá | 14 |
| Figura 5 – Locais de amostragem no Complexo Estuarino de Paranaguá | 20 |
| Figura 6 - Fluxograma do procedimento analítico..... | 22 |
| Figura 7 - Sistema de extração Soxhlet (a) e evaporador rotatório (b) | 24 |
| Figura 8 - Purificação e fracionamento por cromatográfica de adsorção em coluna..... | 24 |
| Figura 9 – Reação de derivatização dos esteróis | 25 |
| Figura 10 - Evaporação dos extratos sob fluxo de N ₂ | 27 |
| Figura 11 – CG/MS Perkin Elmer Modelo Clarus 500 MS | 27 |
| Figura 12 – Curvas de calibração dos padrões de esteróides | 31 |
| Figura 13 – Analisador CHNS Perkin Elmer 2400 Série II..... | 33 |
| Figura 14 - Teor de carbono orgânico (%) nas amostras de sedimento da Baía de Paranaguá | 35 |
| Figura 15 - Teor de nitrogênio total (%) nas amostras de sedimento da Baía de Paranaguá | 35 |
| Figura 16 - Relação C:N nas amostras de sedimento da Baía de Paranaguá..... | 36 |
| Figura 17 – Concentração de esteróides (ng.g ⁻¹ peso seco) nos sedimentos coletados em Agosto/2003 (Grupo S)..... | 39 |

| | |
|--|----|
| Figura 18 – Concentração de esteróides (ng.g^{-1} peso seco) nos sedimentos coletados em Fevereiro/2004 (Grupo T) | 43 |
| Figura 19 - Concentração de esteróides (ng.g^{-1} peso seco) nos sedimentos coletados em Novembro/2004 (Grupo R) | 44 |
| Figura 20 – Concentração de esteróides (ng.g^{-1} peso seco) nos sedimentos coletados em (Dezembro/2004 e Janeiro/2005) (Grupo P)..... | 48 |
| Figura 21 – Distribuição dos esteróides em relação aos 3 principais fatores do PCA. | 50 |
| Figura 22 – Distribuição das estações em relação aos 3 principais fatores do PCA..... | 51 |
| Figura 23 – Distribuição dos estações em relação aos fatores 2 e 3 do PCA..... | 52 |
| Figura 24 - Mapa do Complexo estuarino de Paranaguá mostrando os eixos norte-sul (verde) e leste-oeste (vermelho). | 53 |
| Figura 25 – Resultados de coprostanol (ng.g^{-1}) no eixo leste-oeste. | 56 |
| Figura 26 – Comparação entre as concentrações (ng.g^{-1}) de epicoprostanol e coprostaol no eixo leste-oeste..... | 59 |
| Figura 27 – Comparação entre as relações propostas por Grimalt et al. (1990) para confirmar a contaminação nestes locais. | 63 |
| Figura 28 – Concentração (ng.g^{-1}) de esteróides de fontes naturais no eixo Leste-Oeste (Baía de Paranaguá)..... | 71 |
| Figura 29 - Concentração (ng.g^{-1}) de esteróides de fontes naturais no eixo Norte-Sul (Baía de Laranjeiras)..... | 72 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Nomenclatura usual e oficial dos principais esteróides | 8 |
| Tabela 2 - Relação dos esteróis e a informação geoquímica associada (Volkman <i>et al.</i> , 1998; Saliot, 1994)..... | 10 |
| Tabela 3 – Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as campanhas de agosto de 2003 do Projeto RECOS/Milênio (Grupo S) .. | 18 |
| Tabela 4 - Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as campanhas de fevereiro de 2004 do Projeto RECOS/Milênio (Grupo T) | 18 |
| Tabela 5 – Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as coletas de novembro de 2004 realizadas para o monitoramento do derramamento do Navio Vicunã (Grupo R)..... | 19 |
| Tabela 6 – Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as coletas de dezembro de 2004 e janeiro de 2005 realizadas para o monitoramento do derramamento do Navio Vicunã (Grupo P) | 19 |
| Tabela 7 - Íons característicos dos esteróis analisados | 28 |
| Tabela 8 – Variação dos fatores de resposta obtidos ao longo do trabalho..... | 30 |
| Tabela 9 – Concentrações ($\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) de cada esteróide na solução estoque. .. | 30 |
| Tabela 10 – Concentrações ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em Agosto/2003 (Grupo S)..... | 38 |
| Tabela 11 - Concentrações ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em Fevereiro/2004 (Grupo T)..... | 42 |
| Tabela 12 – Concentrações ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em Novembro/2004 (Grupo R). | 46 |

| | |
|--|----|
| Tabela 13– Concentrações (ng.g^{-1} peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em (Dezembro/2004 e Janeiro/2005) (Grupo P). | 47 |
| Tabela 14 – Dados de coprostanol em diferentes regiões do mundo. | 56 |
| Tabela 15 – Relações para avaliação da contaminação por esgoto urbano | 62 |
| Tabela 16 – Principais relações no eixo leste-oeste do Complexo da Baía de Paranaguá | 66 |
| Tabela 17 – Principais relações no eixo norte-sul do Complexo da Baía de Paranaguá | 69 |

1. Resumo

As regiões costeiras do Complexo da Baía de Paranaguá têm sofrido um crescente desenvolvimento industrial, comercial e turístico, que acarreta em aportes de origem industrial, rural e urbana. A determinação da contaminação por esgoto urbano é normalmente realizada por indicadores microbiológicos (ex.: coliformes fecais), mas existem indicadores químicos como os esteróides (ex.: coprostanol) que são menos sensíveis a variações ambientais. Visando avaliar a introdução de matéria orgânica de origem antrópica e biogênica, 9 esteróides fecais foram analisados em 39 sedimentos coletados ao longo do Complexo Estuarino de Paranaguá (PR) entre 2003 e 2005. As concentrações de coprostanol variaram entre 0,02 e 2222 ng.g⁻¹, sendo que o eixo leste-oeste foi o mais contaminado por esteróis de origem antrópica. Os esteróis campesterol, estigmasterol e β -sitosterol, normalmente associados ao aporte de matéria orgânica de origem biogênica, foram identificados em todos os sedimentos analisados. β -sitosterol foi o mais abundante entre os marcadores biogênicos, chegando a representar 58% dos esteróides totais. Isso indica que aportes biogênicos (principalmente terrígenos) são importantes fontes de matéria orgânica para o Complexo Estuarino de Paranaguá, principalmente onde não foi encontrada contaminação antropogênica.

Palavras Chave: esteróis, Baía de Paranaguá, sedimento, efluentes domésticos.

2. Abstract

The coastal area of Paranaguá Bay (PR) has been receiving an increasing industrial, commercial and tourist development. As a consequence, its waters have been receiving different sorts of industrial, rural and urban inputs. The determination of the contamination from urban sewage is normally evaluated using microorganisms such as fecal coliforms, but molecular markers such as coprostanol are less sensitive to environmental variability. Thus, the present work aimed to evaluate the introduction of organic matter from anthropogenic and natural sources by analyzing 9 sterols (fecal and biogenic) in 39 sediments sampled from the Paranaguá Bay between 2003 and 2005. The concentrations of coprostanol varied between 0.02 and 2222 ng.g⁻¹, and the east-west axis of the Paranaguá Bay was more contaminated by fecal sterols. The sterols campesterol, stigmasterol and β -sitosterol, normally associated with biogenic inputs, were detected in all sediments analyzed. β -sitosterol was dominant, reaching up to 58% of the total sterols. Thus, biogenic inputs are an important source of organic matter to the Paranaguá Bay, mainly where anthropogenic contamination is less important.

Keywords: sterols, Bay of Paranaguá, sediment, domestic effluents.

3. Introdução

As regiões litorâneas têm passado por um crescente desenvolvimento industrial, comercial, turístico e agropecuário (Weber, 1992). Conseqüentemente, grandes quantidades de resíduos industriais, materiais de dragagem e esgotos urbanos são produzidos. Nesse contexto, os corpos hídricos têm sido freqüentemente utilizados como destino de tais dejetos, o que se mostra como a solução mais econômica, porém com um grande risco de contaminação de lagos, rios e oceanos (Jardim, 1992).

Dentre os principais tipos de contaminação que afetam os ambientes aquáticos podemos citar as causadas por metais pesados, compostos organoclorados, hidrocarbonetos de petróleo e, principalmente, por esgotos industriais e urbanos (Baird, 2002).

De acordo com pesquisa do IBGE (2002), apresentada no Plano Nacional de Recursos Hídricos, 47,8% dos municípios não coletam nem tratam os esgotos, sendo que a maioria (84,6%) simplesmente despeja os esgotos urbanos em corpos hídricos. Nas regiões Norte e Sudeste, o número sobe para 93,8% e 92,3%, respectivamente. Dentre os municípios que têm o serviço de coleta (52,2%), pouco mais de 1/3 tratam o esgoto (33,8%).

Na maioria das regiões litorâneas, o tratamento dos esgotos domésticos consiste em uma simples remoção de sólidos grosseiros e cloração dos efluentes, ou mesmo lançamentos *in natura*. Como conseqüência, a contaminação por esgotos domésticos converte-se em um dos principais problemas brasileiros quanto à preservação e utilização dos recursos hídricos continentais e costeiros (Jardim, 1992).

A contaminação por esgotos urbanos é caracterizada pelo aporte de elevadas quantidades de matéria orgânica e microrganismos patogênicos, acarretando impactos a vida marinha (alternando a biodiversidade e o equilíbrio do ecossistema marinho) e problemas à saúde pública (Martins, 2001). Quando oriundos de grandes centros urbanos, os lançamentos de esgotos podem atingir proporções preocupantes, como já observado nas águas dos rios Guaíba (Porto Alegre) e Tietê (São Paulo) e da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro) (CETESB, 1996).

A detecção da contaminação por esgotos urbanos no meio ambiente é de considerável importância para a saúde pública, sendo realizada normalmente através de indicadores microbiológicos como coliformes fecais (Bartlett, 1987). Um dos motivos pelo qual esta metodologia é utilizada, é a especificidade dessas bactérias no esgoto e o grande número em que se encontram, facilitando a sua quantificação. Esses organismos, no entanto, não sobrevivem por longo tempo em ambientes estuarinos e marinhos, especialmente devido à ação das radiações solares, temperatura, predação e competição. Enquanto isso, muitos patógenos podem sobreviver por mais tempo sob tais condições (Solic, 1992; McCalley *et al.*, 1981) e representar risco potencial à saúde pública. Como foi observado por Martins (1975), além das bactérias, alguns vírus podem sobreviver aos processos convencionais de tratamento das águas e de esgoto.

Os padrões microbiológicos são utilizados, geralmente, para avaliar a qualidade da água. Entretanto, a inserção de esgoto em regiões costeiras pode afetar os sedimentos, já que estes acabam se tornando depósitos de microrganismos patogênicos e parasitas devido à longa sobrevivência e

afinidade destes organismos com o material particulado da coluna d'água (Bartlett, 1987).

Neste sentido, é necessário que outros indicadores químicos ou biológicos, menos susceptíveis às mudanças ambientais do que as bactérias, sejam utilizados para se constatar a presença de contaminação por esgoto doméstico (Venkatesan, 1992). Os compostos das classes dos esteróides e os alquilbenzenos lineares (LABs) são os indicadores químicos mais citados em trabalhos envolvendo contaminação fecal e efluentes domésticos.

4. Esteróides

Os esteróides e seus derivados são constituintes ubíquos de todos os organismos vivos, sendo, portanto, importantes biomarcadores geoquímicos. Biomarcador geoquímico é um composto (ou classe de compostos) cuja estrutura, ou seu nível de transformação diagenética, pode ser relacionado a uma origem específica. Outros termos equivalentes encontrados na literatura são fósseis químicos, fósseis moleculares, marcadores biogeoquímicos e biomarcadores (Saliot, 1994; Mackenzie, 1982).

Os esteróides são compostos biosintetizados em uma grande variedade estrutural e que apresentam um esqueleto carbônico básico constituído de 17 a 29 átomos de carbono, podendo apresentar grupos metílicos em especial nos carbonos 10 e 13. Apresentam um grupo hidroxila ligado na posição 3, o que lhes garante propriedades químicas semelhantes aos álcoois, sendo assim chamados de **esteróis**. Em alguns casos, o grupo hidroxila na posição 3 pode estar protegido, sob a forma de um grupo cetônico, caracterizando as **esteronas** e **estanonas** (Figura 1). Em todos os casos, são substâncias que

apresentam anéis alifáticos em sua estrutura. Sendo assim, sua classificação é baseada principalmente na presença de diferentes grupos funcionais em sua estrutura. Desta forma, segundo Gagosian et al. (1979) os esteróides podem ser classificados em:

Esteróis: é a denominação para todos os álcoois esteróides, ou seja, todos os esteróides que contém uma hidroxila no C₃ e uma cadeia alifática ramificada de oito ou mais carbonos em C₁₇.

Estenóis: referem-se aos esteróis insaturados com dupla ligação em C₅ ou C₇. Na nomenclatura popular, os nomes destes compostos aparecem acompanhados do sufixo – erol. Por exemplo, colesterol é o nome usual para o colest-5-en-3β-ol.

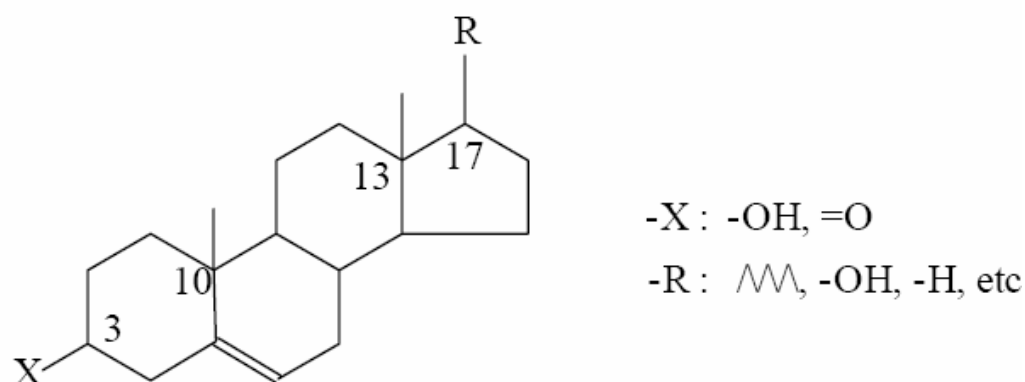


Figura 1 - Estrutura básica dos esteróides (Martins, 2001)

Estanóis: são os esteróis com um conjunto de anéis totalmente saturados, sendo produtos da redução de estenóis, principalmente em C₅. A substituição pode ser na posição α , formando o 5 α -colestano-3 β -ol ou colestanol, ou na posição β , formando o 5 β -colestano-3 β -ol ou coprostanol. Também pode haver isomerismo no grupamento –OH em C₃, formando, no caso do coprostanol, o epicoprostanol (5 β -colestano-3 α -ol).

Estanonas: são esteróides onde o grupo –OH em C₃ foi substituído por um grupo cetona. São exemplos a coprostanona (5 β -coleston-3-ona) e a colestonona (5 α -coleston-3-ona).

Os esteróides encontrados nos sedimentos de ambientes aquáticos podem ter sua origem relacionada a aportes naturais ou antropogênicos, sendo utilizados na identificação da matéria orgânica de origem fecal, assim como para distinguir a contribuição marinha ou continental da matéria orgânica sedimentar (Mudge & Norris, 1997). Dentre os naturais podemos citar: dinosterol, colesterol, campesterol, β -sitosterol, β -sitostanol, colestanol, entre outros. Além destes naturais, também são encontrados o coprostanol e o epicoprostanol, sendo denominados esteróides fecais.

As nomenclaturas oficial e usual de alguns dos principais esteróides e suas estruturas químicas correspondentes estão apresentadas na Tabela 1 e Figura 2, respectivamente.

Tabela 1 - Nomenclatura usual e oficial dos principais esteróides

| Número de Átomos | Estrutura | Nome usual | Nome oficial |
|------------------|-----------|----------------|--|
| C ₂₇ | I | Coprostanol | 5β-colestan-3β-ol |
| C ₂₇ | II | Epicoprostanol | 5β-colestan-3α-ol |
| C ₂₇ | III | Coprostanona | 5β-colestan-3-ona |
| C ₂₇ | IVa | Colesterol | colest-5-em-3β-ol |
| C ₂₇ | V | Colestanol | 5α-colestan-3β-ol |
| C ₂₇ | VI | Colestanona | 5α-colestan-3-ona |
| C ₂₈ | IVb | Campesterol | 24-metilcolest-5-em-3β-ol |
| C ₂₉ | IVc | Estigmasterol | 24-etilcolest-5,22(E)-dien-3β-ol |
| C ₂₉ | IVd | β-sitosterol | 24-etilcolest-5-en-3β-ol |
| C ₃₀ | VII | Dinosterol | 4α,23,24-trimetil-5α-colest-22(E)-en-3β-ol |

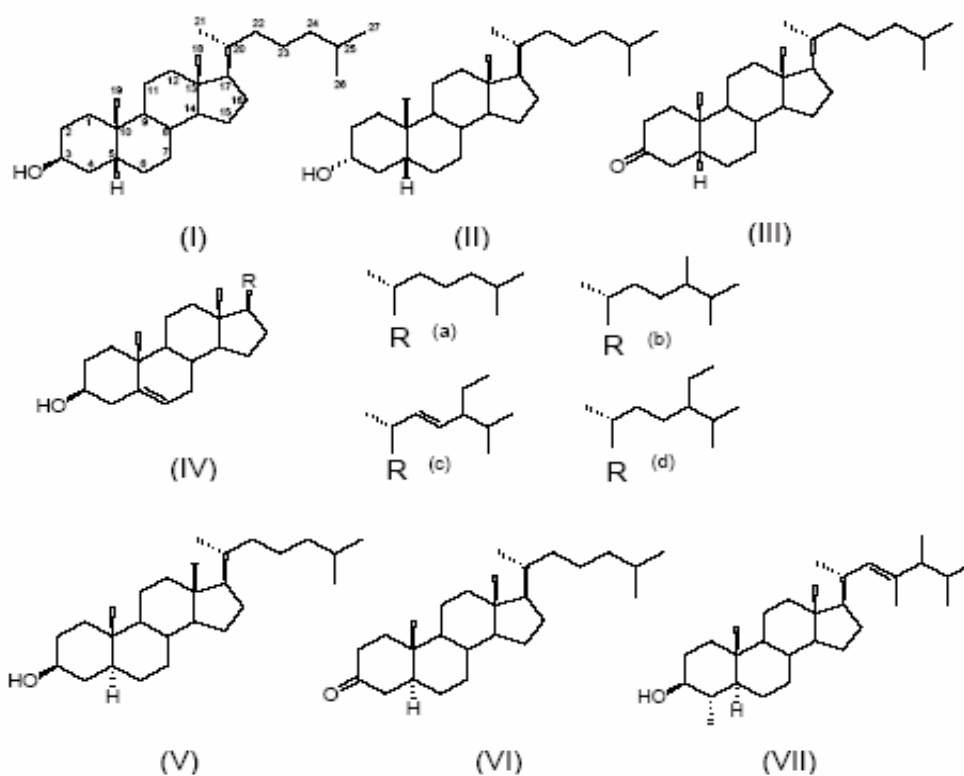


Figura 2 - Estrutura química dos principais esteróides (conforme listados na Tabela 1) (Carreira, 2000)

Apesar da ampla ocorrência nos organismos, os esteróides existentes em ambientes aquáticos, independente da origem, contêm principalmente de 27 a 29 (C_{27} a C_{29}) átomos de carbono, embora possam ser encontrados numa faixa entre C_{26} e C_{31} (Shaw, 1986). Baseado nessa característica, na década de 70 foi proposta a construção de diagramas ternários entre C_{27} , C_{28} e C_{29} para distinguir entre fontes naturais terrígenas e marinhas da matéria orgânica (Huang & Meinschein, 1979). As fontes marinhas (fito e zooplâncton) produziram compostos com C_{27} e C_{28} e as plantas superiores com C_{29} (Volkman, 1994). No entanto, essa visão passou a ser considerada muito simples na medida em que aumentou o conhecimento sobre os esteróides nas diversas classes de algas e bactérias. Entretanto, com as devidas ressalvas e considerando suas limitações, os diagramas ternários formados por esteróides entre C_{27} e C_{29} ainda são usados em trabalhos recentes (Bouloubassi *et al.*, 1999).

Na Tabela 2 estão listados alguns esteróis considerados em estudos sobre a origem da matéria orgânica em sistemas aquáticos. Porém, um determinado biomarcador pode ser derivado de mais de uma fonte, exigindo cautela nas interpretações. Um exemplo são os esteróides com 29 átomos de carbono. As plantas superiores, por exemplo, têm como principais esteróis o β -sitosterol, o estigmasterol e o campesterol (este com C_{28}), mas foram encontradas algumas classes de fitoplâncton que também produzem esses compostos, embora em proporções variadas. Neste caso, é necessário conhecer a estereoquímica dos compostos. O β -sitosterol (24α) é produzido pelas plantas terrestres, enquanto o clionasterol (24β) é produzido pelas algas marinhas, e o mesmo ocorre com o campesterol.

Tabela 2 - Relação dos esteróis e a informação geoquímica associada (Volkman *et al.*, 1998; Saliot, 1994)

| Esterol | Estrutura* | Informações |
|---|------------|--|
| Colesterol (Colest-5-em-3 β -ol) | IV | ▪ onipresente, abundante no fito e no zooplâncton |
| Colestanol (5 α -coleston-3 β -ol) | V | ▪ diatomáceas ▪ redução química do colesterol ▪ biohidrogenação microbiana do colesterol |
| Dinosterol (4 α -23,24-trimetil-5 α -coleston-3 β -ol) | VII | ▪ dinoflagelados |
| 24-etil-colest-5en-3 β -ol (24(α)= β -sitosterol) (24(β)=clionasterol) | IVd | ▪ plantas superiores ▪ algas |
| Estigmasterol (24(α)24-eticolest-5,22-dien-3 β -ol) | IVc | ▪ plantas superiores |
| Campesterol (24(α)24-metilcolest-5-en-3 β -ol) | IVb | ▪ plantas superiores ▪ diatomáceas, clorofícias |

* conforme Figura 2

O uso dos esteróides como indicadores de contaminação fecal é particularmente aplicável a regiões próximas a grandes centros populacionais e industriais. Na maioria das vezes o esgoto é tratado primariamente, sendo o homem a principal fonte dos esteróides ditos fecais (Green & Nichols, 1995; Venkatesan, 1992; Venkatesan *et al.*, 1989; Venkatesan, 1986).

O coprostanol (5 β -coleston-3 β -ol) 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). É considerado de origem fecal devido a sua presença nas fezes de animais superiores, principalmente, o homem, sendo formado através da hidrogenação (redução) bacteriana do colesterol no intestino de animais superiores (Fattore *et al.*, 1996). Na temperatura ambiente o coprostanol é um sólido branco cristalino, hidrofóbico, solúvel em solventes orgânicos e com ponto de fusão de 101°C. A sua solubilidade em água não foi relatada, mas a

solubilidade em água do colesterol, cuja estrutura é similar ao coprostanol, é de $2,6 \times 10^{-6} \text{ g.L}^{-1}$ (Takada & Enganhouse, 1998) .

Já o epicoprostanol é um esterol fecal, epímero do coprostanol, não estando presente de forma significativa nas fezes humanas (Peng *et al.*, 2005). Pode surgir a partir de processos de digestão aeróbica de lodos de estações de tratamento de esgoto (Mudge & Norris, 1997). A presença de traços de epicoprostanol, desde que haja concentrações altas de coprostanol, sugere uma possível contaminação dos sedimentos por esgoto (Volkman *et al.*, 1998).

Por apresentar baixa solubilidade em água, os esteróides fecais tendem a se associar ao material particulado e a se acumular nos sólidos presentes no esgoto. A resistência à degradação anaeróbica possibilita o acúmulo de esteróides fecais em sedimentos, o que possibilita a sua determinação. Isso leva a duas situações. Nos tratamentos de esgotos que envolvem a remoção de sólidos, são encontrados efluentes com baixos teores de esteróides. Por outro lado, em sua forma particulada, os esteróides podem acumular-se nos sedimentos, o que permite inferir se a contaminação por esgoto daquela região é recente ou contínua, uma vez que em ambientes anóxicos sua degradação é muito lenta.

A estanona (5β -coprostanona) também é um produto intermediário da conversão do colesterol para coprostanol que ocorre preferencialmente no trato intestinal de animais superiores. A Figura 3 apresenta os passos da biotransformação do colesterol por hidrogenação direta e seus intermediários colestano e coprostanona.

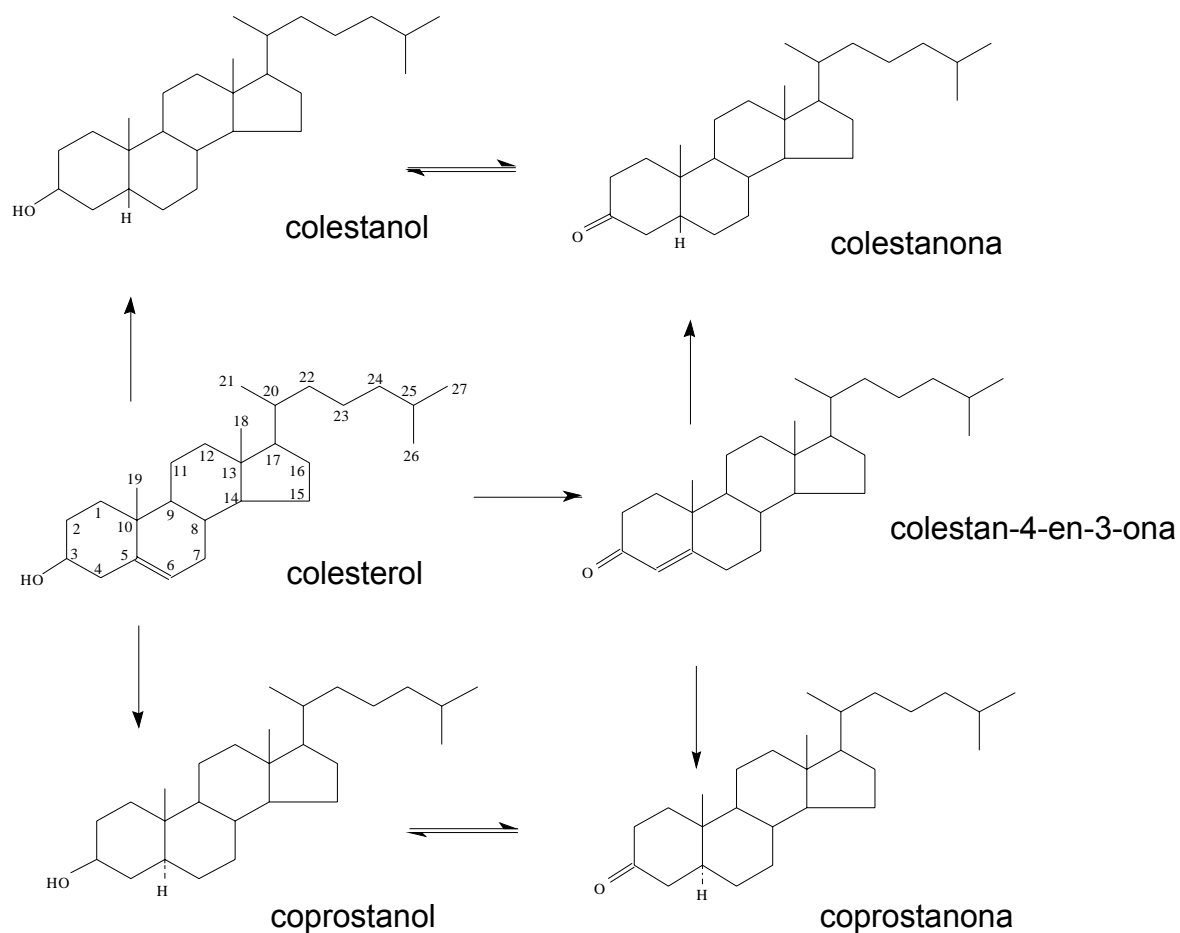


Figura 3 - Etapas de transformação do colesterol (Grimalt et al., 1990)

5. Objetivos

Como um dos objetivos do projeto Uso e Apropriação de Recursos Costeiros (RECOs) do programa Instituto do Milênio (PADCT/CNPq), o subprojeto Qualidade Ambiental e Biodiversidade visa avaliar a qualidade ambiental de diversos estuários distribuídos ao longo da costa brasileira. Sendo assim, o Complexo da Baía de Paranaguá (Paraná) foi selecionado para estudo em razão da sua importância ecológica e diversidade de atividades antrópicas. Então, os principais objetivos desta dissertação é:

Avaliar a introdução de matéria orgânica de origem antrópica (oriunda dos efluentes urbanos das cidades de Paranaguá, Antonina, e demais

comunidades da margeiam a Baía, e das atividades portuárias e industriais) através da presença de esteróides fecais nos sedimentos coletados ao longo do Complexo Estuarino de Paranaguá (PR);

Avaliar os níveis e a principal origem da matéria orgânica biogênica através da análise de esteróides não fecais.

6. Área de estudo

O Complexo Estuarino de Paranaguá está situado na região sudeste do Brasil (48°25'W, 25°30'S), no Norte do litoral do Estado do Paraná. É limitado ao Norte e Oeste pelas cadeias montanhosas da Serra do Mar, ao Sul pelos terrenos quaternários da planície costeira paranaense e a Leste pelo Oceano Atlântico (Figura 4). Sua conexão com o Oceano 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 Complexo Estuarino de Paranaguá abrange um grande corpo aquoso de forma irregular, com 612km² de área que se projeta continente adentro na região de paisagem natural designada como Planície Litorânea, abrigando, ainda, a Ilha do Mel e vários balneários (Figura 4). Este complexo congrega ainda as Baías de Paranaguá e Antonina (260Km²) no eixo leste - oeste e, no eixo norte – sul, as enseadas de Benito e Itaqui e as Baías de Laranjeiras e Pinheiros (200km²) (Lana *et al.*, 2001).

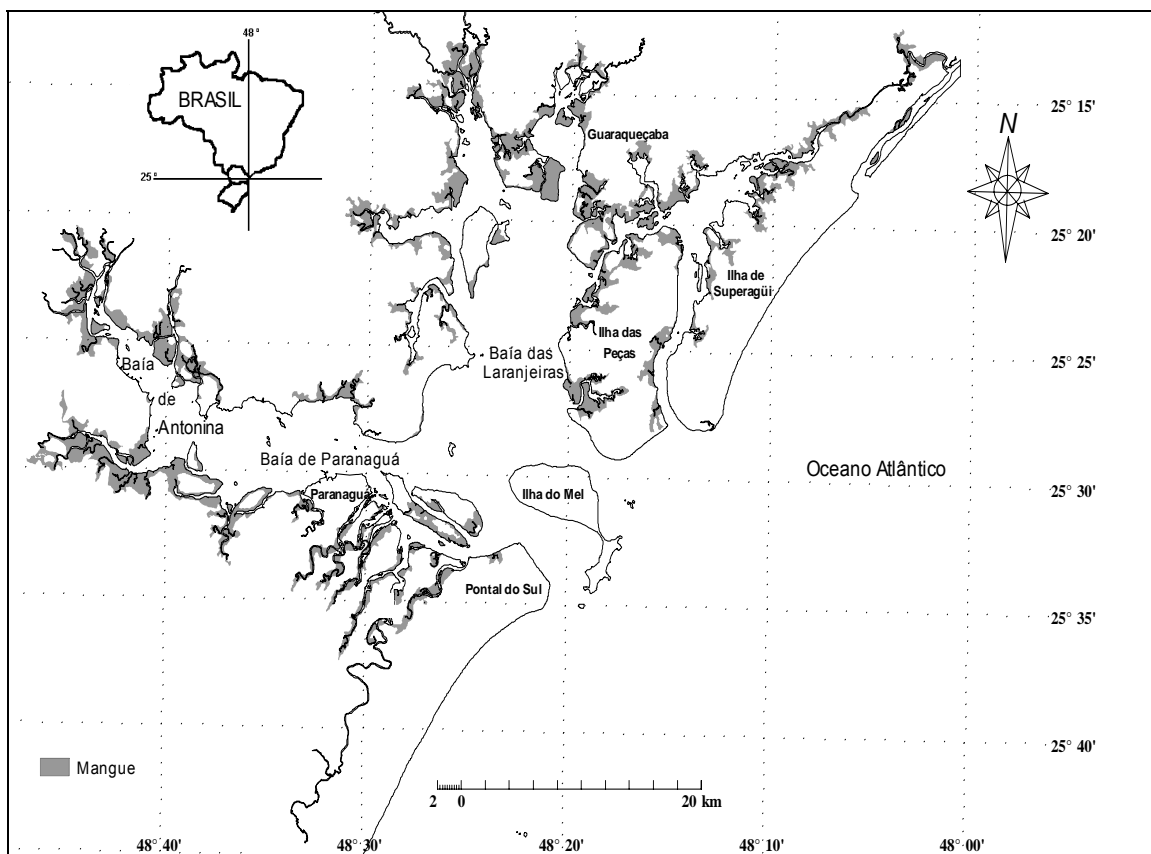


Figura 4 - Complexo Estuarino de Paranaguá

A Baía de Paranaguá recebe aporte dos rios Cachoeira, Faisqueira, Nhundiaquara e Guaraguacú, além do Itiberê e o Anhaia, que margeiam a cidade de Paranaguá. Na Baía de Laranjeiras localiza-se a enseada de Itaqui, onde desembocam os rios Guaraqueçaba, Serra Negra, Açungui, Tagaçaba e Morato (Lana, 1986).

O clima é classificado como pluvial temperado, úmido, onde a média da umidade relativa do ar é de 85% e a temperatura média do ar é de aproximadamente 21°C. O período chuvoso abrange os meses de outubro à março, o que corresponde à primavera e ao verão. Já o período seco engloba os restantes meses, nas estações outono e inverno. 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).

Noenberg (2001) detectou a presença de uma zona de máxima turbidez (ZMT) no eixo Leste-Oeste, ocorrendo entre as Ilhas Gegerês 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. 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 intensos, a matéria orgânica acompanha a distribuição dos sedimentos finos, predominando argila.

A região abriga Unidades de Conservação estaduais e federais, destacando-se: Área de Proteção Ambiental de Guarapeçaba (APA), Estação Ecológica de Guarapeçaba, Área de Relevante Interesse Ecológico das Ilhas do Pinheiro e Pinheirinho, Parque Nacional de Superagui, Área de Especial Interesse Turístico do Murumbi e Estação Ecológica Ilha do Mel (Nimad, 1994). A importância ecológica do Complexo Estuarino de Paranaguá é determinada pela sua grande diversidade de ambientes, incluindo planícies de maré, baixios, ilhas, costões rochosos, marismas, rios de marés (gamboas) e manguezais (Lana, 1986).

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 (Camargo, 1998), 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, enquanto que as atividades pesqueiras e de lazer, o tráfego de embarcações de pequenas e médias porte.

A qualidade da água na região, porém, não é afetada somente pela contaminação oriunda das atividades de navegação, mas também pelo lançamento de esgoto *in natura* proveniente da área urbanizada da região. A falta de captação e tratamento adequado do esgoto doméstico é uma realidade não somente do Complexo Estuarino de Paranaguá, mas também de toda a sua região de drenagem e demais regiões pertencentes à zona costeira do Paraná. A situação no Complexo Estuarino de Paranaguá é agravada devido a este possuir um grande índice demográfico (217.150 habitantes permanentes – IBGE (2002) registrado para todo o litoral, sendo 96%, aproximadamente, urbana. Com uma rede de coleta e tratamento inexistente ou insuficiente (em torno de 15%), o esgoto sanitário *in natura* é lançado inapropriadamente nos rios e canais (ex. rios Itiberê e Enboguazu e canal Anhaia na Vila Guarani) ou diretamente na baía, por meio de 4163 ligações diretas (FUNPAR, 2006). Estudos realizados 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.

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 pelo qual os sedimentos são redistribuídos e depende de uma série de fatores (os quais são variáveis no tempo e no espaço), 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 resuspensão, 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 no sedimento.

7. Material e Métodos

7.1 Amostragem de sedimento

Foram coletadas 39 amostras de sedimento cobrindo a boa parte do Complexo Estuarino de Paranaguá (Figura 5). Estas coletas foram realizadas durante as campanhas de agosto de 2003 e fevereiro de 2004 do Projeto RECOS/Milênio, e durante as coletas de novembro de 2004 e dezembro de 2004 e janeiro de 2005 realizadas para o monitoramento do derramamento do Navio Vicunã (Tabelas 3, 4, 5 e 6).

As coletas de sedimento foram realizadas com pegador de fundo inox tipo Van Veen modificada. Aproximadamente 500g de sedimento da camada superficial (primeiros 2-3 centímetros) foram retirados com uma colher de aço inox e embalados em potes de alumínio previamente calcinadas em mufla a

400°C por 6 horas. Os potes foram identificados e acondicionados em freezer a -20°C até a análise no laboratório.

Tabela 3 – Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as campanhas de agosto de 2003 do Projeto RECOS/Milênio (Grupo S)

| Código | Descrição do Local | Data da Coleta | Localização | |
|--------|--|----------------|-------------|-----------|
| | | | Latitude | Longitude |
| S1 | Acima da Antonina | 4-ago-03 | 7187191 | 729833 |
| S2 | late Antonina | 4-ago-03 | 7184774 | 730711 |
| S3 | Terminal Antonina | 4-ago-03 | 7182217 | 733837 |
| S4 | Ilha do Teixeira | 4-ago-03 | 7178792 | 736978 |
| S5 | Zona de máxima turbidez - Ilhas Gererês | 4-ago-03 | 7178533 | 745512 |
| S6 | Saída do Anhaia | 4-ago-03 | 7177469 | 746854 |
| S7 | Pier BR | 4-ago-03 | 7177173 | 748018 |
| S8 | Porto de Paranaguá | 4-ago-03 | 7177383 | 751312 |
| S9 | Centro de Paranaguá | 4-ago-03 | 7175288 | 750957 |
| S10 | Saída do Itiberê | 4-ago-03 | 7177293 | 752970 |
| S12 | Ilha da Cotinga – em frente à Ilha dos Papagaios | 4-ago-03 | 7172226 | 758117 |
| S13 | Ilha Rasa da Cotinga | 4-ago-03 | 717535 | 760367 |
| S14 | Marinas de Pontal do Sul | 4-ago-03 | 7169835 | 765642 |
| S15 | Prainha Ilha do Mel | 4-ago-03 | 7170538 | 769939 |
| S17 | Ilha Rasa (Laranjeiras) | 5-ago-03 | 7197446 | 761746 |

Tabela 4 - Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as campanhas de fevereiro de 2004 do Projeto RECOS/Milênio (Grupo T)

| Código | Descrição do Local | Data da Coleta | Localização | |
|--------|-------------------------------|----------------|-------------|-----------|
| | | | Latitude | Longitude |
| T6 | Saída do Anhaia | 16-fev-04 | 7177469 | 746854 |
| T10 | Saída do Itiberê | 16-fev-04 | 7177293 | 752970 |
| T12 | Ilha da Cotinga | 16-fev-04 | 7173519 | 757089 |
| T16 | Saída do Benito (Laranjeiras) | 17-fev-04 | 7197446 | 761746 |

Tabela 5 – Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as coletas de novembro de 2004 realizadas para o monitoramento do derramamento do Navio Vicunã (Grupo R)

| Código | Descrição do Local | Data da Coleta | Localização | |
|--------|-------------------------|----------------|-------------|-----------|
| | | | Latitude | Longitude |
| R10 | Saída do Itiberê | 23-nov-04 | 7175992 | 751655 |
| R12 | Ilha da Cotinga | 23-nov-04 | 7173311 | 756344 |
| R13 | Ilha Rasa da Cotinga | 23-nov-04 | 7172889 | 759777 |
| R13a | Ilha Rasa da Cotinga | 23-nov-04 | 7175887 | 757352 |
| R13b | Ilha Rasa da Cotinga | 23-nov-04 | 7174372 | 757580 |
| R17 | Ilha Rasa (Laranjeiras) | 23-nov-04 | 7193407 | 759030 |
| R17a | Ilha Rasa (Laranjeiras) | 23-nov-04 | 7191967 | 758369 |
| R17b | Ilha Rasa (Laranjeiras) | 23-nov-04 | 7192308 | 759236 |
| R17c | Ilha Rasa (Laranjeiras) | 23-nov-04 | 7190423 | 759747 |
| R18 | Itaqui (Laranjeiras) | 23-nov-04 | 7194672 | 756710 |

Tabela 6 – Identificação das amostras coletadas na Baía de Paranaguá durante as coletas de dezembro de 2004 e janeiro de 2005 realizadas para o monitoramento do derramamento do Navio Vicunã (Grupo P)

| Código | Descrição do Local | Data da Coleta | Localização | |
|--------|--|----------------|-------------|-----------|
| | | | Latitude | Longitude |
| P2 | late de Antonina | 20-dez-04 | 7184774 | 730711 |
| P12 | Ilha da Cotinga | 20-dez-04 | 7175000 | 755329 |
| P16a | Benito (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7200517 | 762169 |
| P17 | Ilha Rasa (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7195874 | 761827 |
| P17a | Ponta do Lanço – Ilha Rasa (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7196512 | 760720 |
| P17b | Almeida - Ilha Rasa (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7195852 | 759784 |
| P19 | Vila Fátima (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7199713 | 786593 |
| P20 | Puruquara (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7198488 | 774390 |
| P21 | Guapicum (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7190697 | 769811 |
| P22 | Pinheiros natural (Laranjeiras) | 4-jan-05 | 7199345 | 783590 |

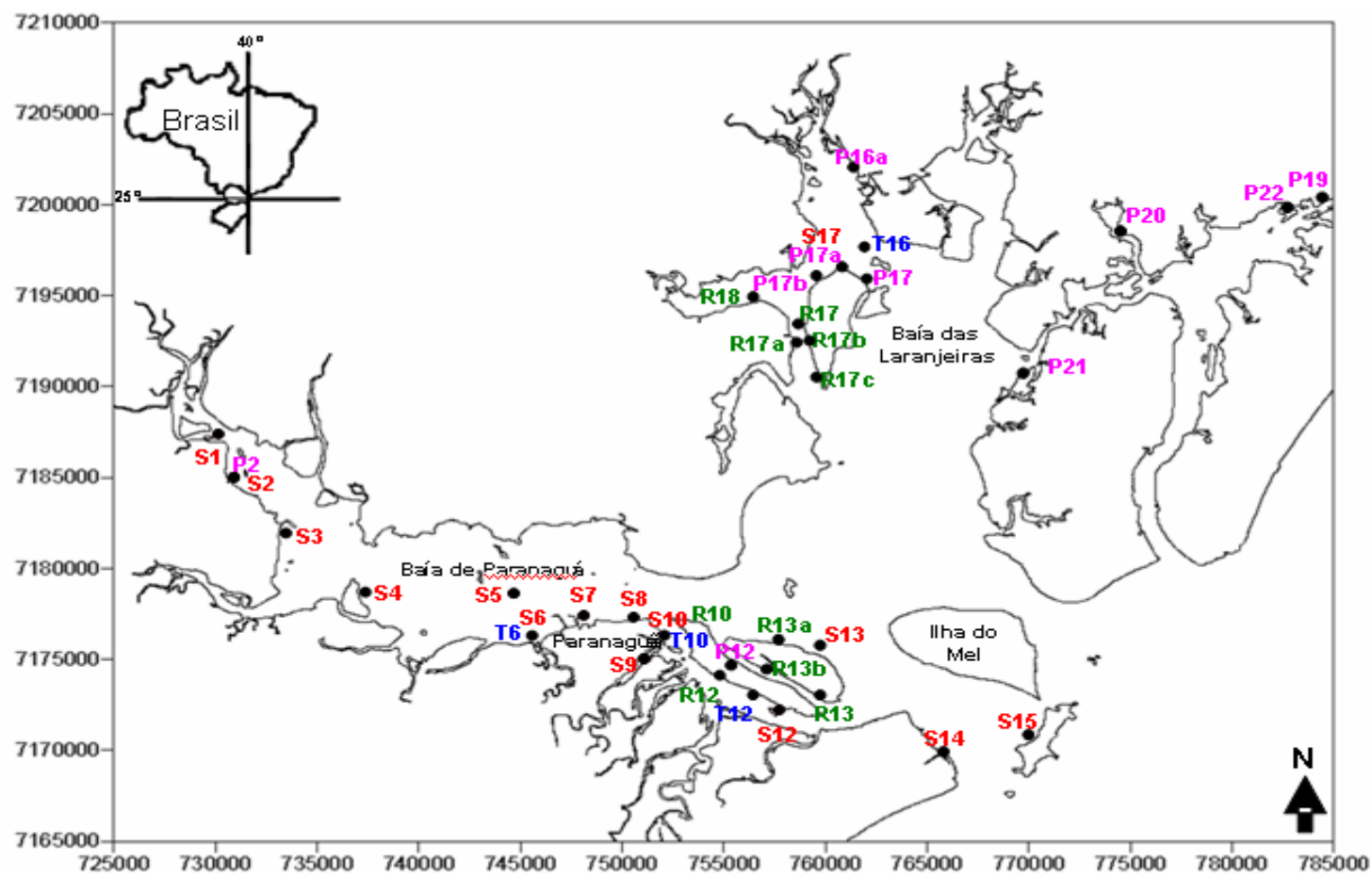


Figura 5 – Locais de amostragem no Complexo Estuarino de Paranaguá

7.2 Análise de esteróides

7.2.1 Limpeza do material

A vidraria utilizada foi previamente lavada com a finalidade de remover todos os compostos orgânicos indesejáveis. Toda vidraria foi imersa em solução 5% de detergente Extran alcalino (Merck) por 12 horas. Após ser lavada abundantemente com água corrente, foi imersa em solução 5% de ácido nítrico por 12 horas, sendo em seguida lavada abundantemente com água corrente e água destilada. Após seca em estufa (40°C), foi guardada em local limpo até a sua utilização. No momento do uso foi rinsada com acetona (P.A.) e *n*-hexano (grau análise de resíduo).

7.2.2 Reagentes e Solventes

Com a finalidade de evitar a contaminação por resíduos orgânicos que pudessem interferir nas análises, todos os solventes orgânicos (*n*-hexano e diclorometano, J.T. Baker) utilizados, apesar de serem grau análises de resíduo, foram testados para contaminação por hidrocarbonetos. Os adsorventes (sílica 60-200 Mesh, J.T. Baker e alumina 70-230 Mesh, J.T. Baker) e dissecante (sulfato de sódio anidro, Sigma) foram previamente calcinados em forno mufla durante 6 horas a 400°C. A ativação dos adsorventes foi feita a 160°C por 4h, sendo posteriormente desativados com 5% com água Milli-Q[®] extraída com *n*-hexano. O cobre foi lavado com acetona (P.A.) e, em seguida, com *n*-hexano.

7.2.3 Metodologia analítica

As análises dos esteróides seguiram a metodologia descrita por Readman (1986). O procedimento de análise de sedimento compreende as seguintes etapas (Figura 6):

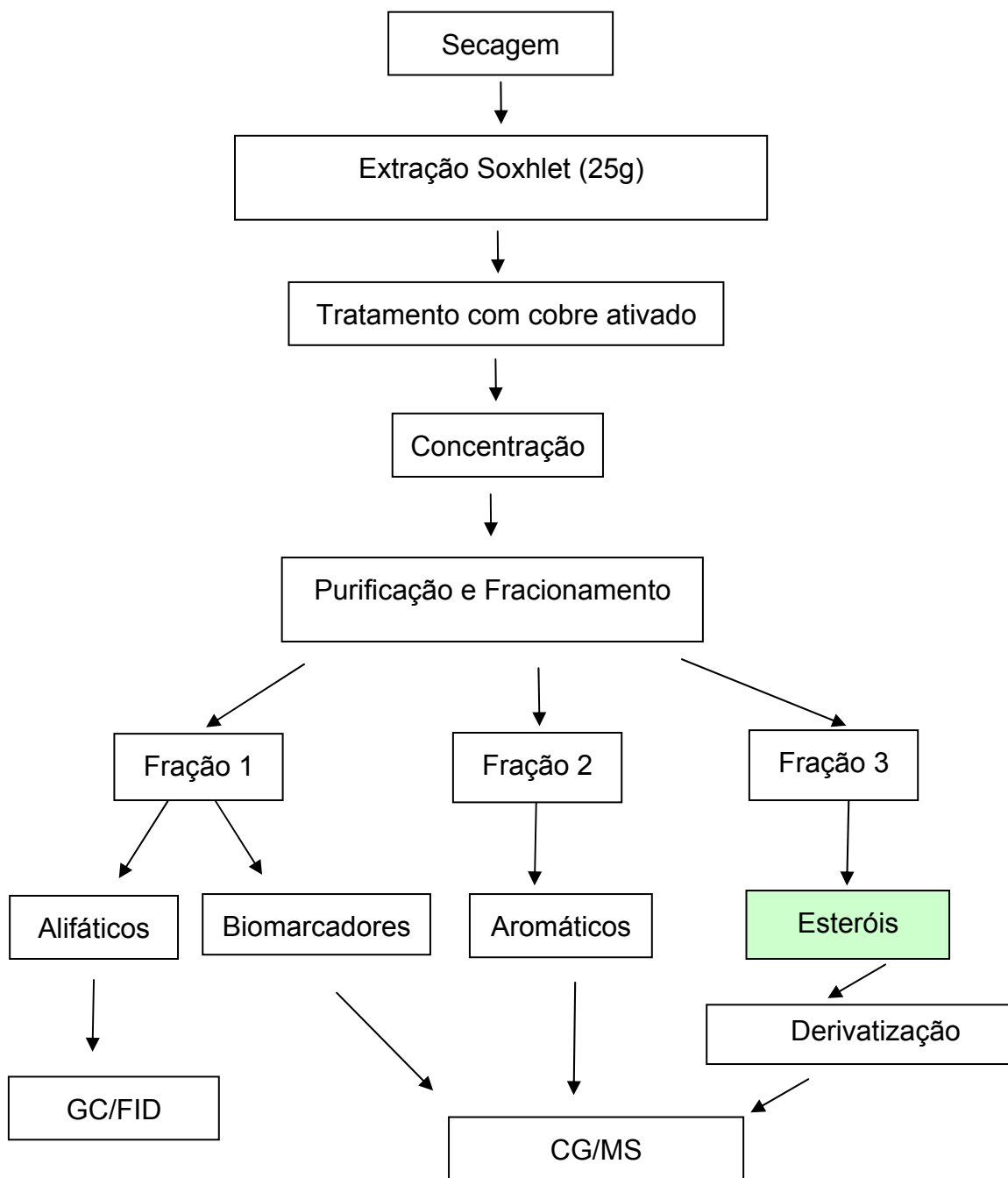


Figura 6 - Fluxograma do procedimento analítico

Preparação das amostras: As amostras de sedimento foram secas em estufa a 40°C, sendo os teores de umidade determinados gravimetricamente. Os sedimentos secos foram desagregados em almofariz e pistilo de porcelana.

Extração: cerca de vinte e cinco gramas de sedimento seco foram extraídas em Soxhlet com 200mL de uma mistura hexano/diclorometano (1:1) por 12 horas (Figura 7a). Uma mistura de padrões surrogados (200 µL) contendo 5α-androtanol-3β-ol foi adicionado às amostras antes da extração.

Tratamento com cobre: cobre ativado foi adicionado às amostras após a extração. O cobre remove o enxofre, que é um interferente nas análises cromatográficas, na forma de um precipitado de sulfeto de cobre. Após 12h, os extratos tratados foram concentrados a 1mL com auxílio de evaporador rotatório a vácuo (Figura 7b) e fluxo de N₂.

Purificação e Fracionamento: Os extratos foram submetidos à cromatografia de adsorção em coluna de vidro com 2 cm de diâmetro externo, contendo 6 g de sílica, 8 g de alumina e 1 g de sulfato de sódio anidro (Figura 8). A eluição foi realizada com 23 mL de *n*-hexano para extrair a primeira fração (que contém os hidrocarbonetos alifáticos), 30 mL de *n*-hexano/diclorometano (90:10) seguido por 25 mL de *n*-hexano/diclorometano (50:50) (contendo hidrocarbonetos aromáticos). Os esteróis foram eluídos com 50 mL diclorometano/metanol (90:10). Após a eluição, as frações foram concentradas a 1 mL e armazenadas.

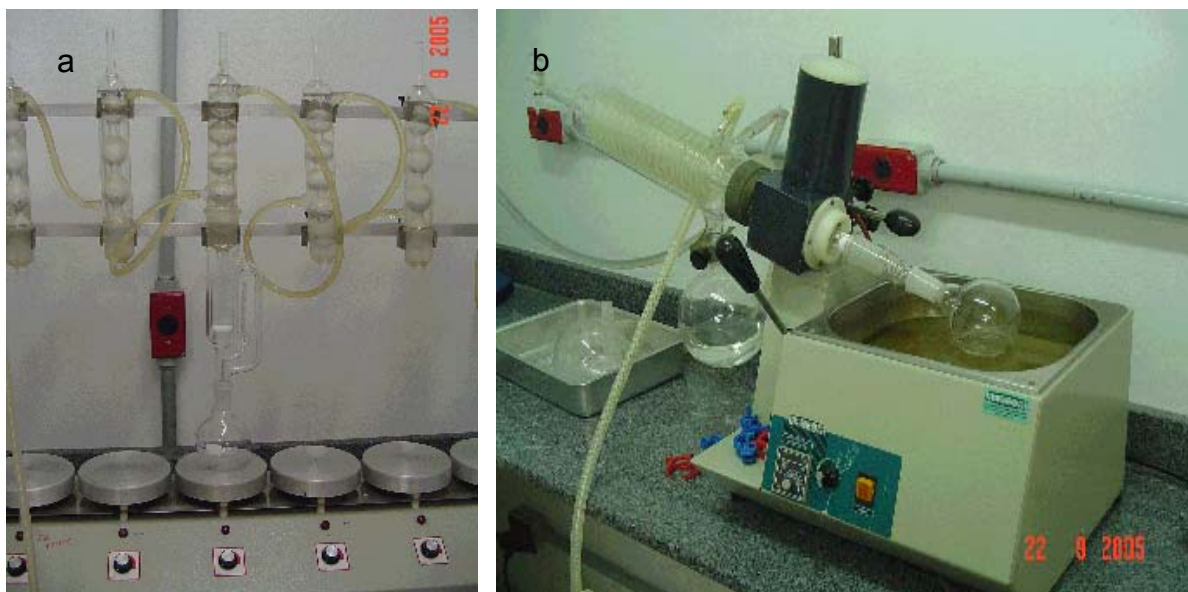


Figura 7 - Sistema de extração Soxhlet (a) e evaporador rotatório (b)

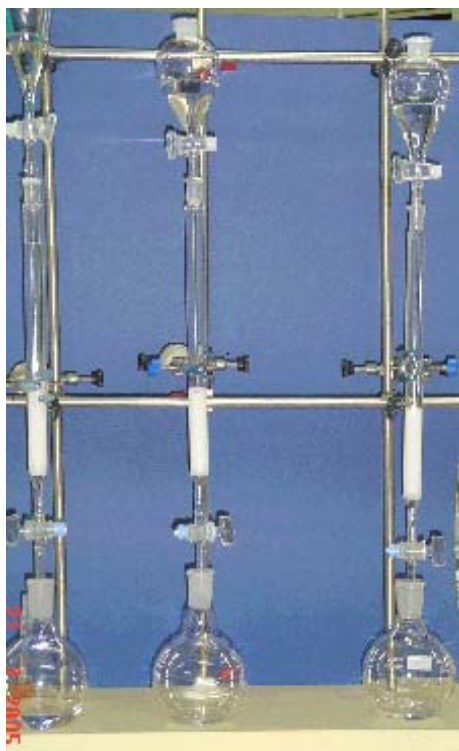


Figura 8 - Purificação e fracionamento por cromatográfica de adsorção em coluna

7.2.4 Derivatização

Devido à baixa volatilidade e alto peso molecular, a análise de esteróis por cromatografia de fase gasosa apresenta uma baixa eficiência. Uma forma

de se aumentar à volatilidade dos esteróis é o processo de derivatização. Neste processo os esteróis são convertidos a ésteres trimetil-silícicos através da substituição do hidrogênio da hidroxila (-OH) da posição 3 dos esteróis pelo grupo trimetil-silícico (-Si(CH₃)₃) do reagente N,O-bis(trimetil-silil-trifluoroacetamida) (BSTFA), possibilitando a resolução dos esteróis por cromatografia de fase gasosa (Figura 9).

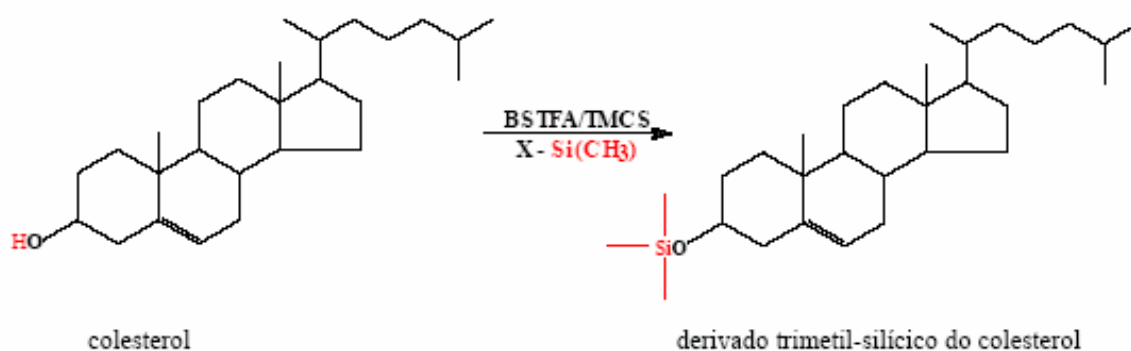


Figura 9 – Reação de derivatização dos esteróis

A derivatização é feita levando a solução que contém os esteróis à secura, sob o fluxo de N₂ (Figura 10), adicionando 40 µL de BSTFA (bis-trimetilsilil trifluoroacetamida, >99% de pureza, grau cromatográfico, Aldrich®) e aquecendo essa solução a 65°C em banho-maria durante 1,5 horas. A solução é novamente seca em fluxo de N₂ e os compostos recuperados com 1 mL de *n*-hexano.

7.2.5 Análise Instrumental

As análises foram realizadas em um cromatógrafo de fase gasosa (Perkin Elmer modelo Clarus 500) equipado com um amostrador automático e com um espectrômetro de massas (Perkin Elmer modelo Clarus 500MS) (Figura 11).

As condições de operação do cromatógrafo foram as seguintes:

- ❖ Coluna cromatográfica capilar Elite - 5MS (5% Difenil – 95% Dimetil Polissiloxano) com 30m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e revestida internamente com 0,25 μ m de filme.
- ❖ Modo de injeção: modo *splitless*, com fluxo de 50mL de hélio após 1 minuto.
- ❖ Temperatura do injetor: 300°C
- ❖ Volume de injeção: 1 μ L de amostra.
- ❖ Gás carreador: hélio, com fluxo constante de 1mL.min⁻¹. Controle de pressão externo para fluxo constante na coluna.
- ❖ Programa de temperatura: início a 60°C, subindo 15°C.min⁻¹ até 250°C, 1°C.min⁻¹ até 280°C e depois 5°C.min⁻¹ até 300°C, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos. O tempo total de corrida foi de 51,7 minutos.

O espectrômetro de massa trabalhou nas seguintes condições:

- ❖ Modo de aquisição: SIFI (Selected Ion and Full Ion Scanning), o equipamento CG/MS Perkin Elmer Clarus 500 realiza em uma única injeção a aquisição pelo modo full scan e monitoramento seletivo de íons, 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.sec⁻¹.
- ❖ Impacto eletrônico: 70 eV.



Figura 10 - Evaporação dos extratos sob fluxo de N_2



Figura 11 – CG/MS Perkin Elmer Modelo Clarus 500 MS

7.2.5.1 Determinação qualitativa dos esteróides

Para a identificação dos esteróis foram utilizadas soluções de padrões externos contendo os esteróis de interesse (Tabela 7). Essas soluções foram derivatizadas e injetadas da mesma maneira que as amostras. A identificação dos esteróis foi realizada com base nos tempos de retenção de alguns íons característicos (Tabela 7). Estes íons (um para quantificação e mais dois para confirmação do composto) foram definidos através de injeções de uma curva com diferentes concentrações de padrões, em corridas no modo full scan (massa de 50 a 550 amu), e comparando os resultados com espectros publicados na literatura.

Tabela 7 - Íons característicos dos esteróis analisados

| Esterol | Nomenclatura oficial | Ion Quantif. | Ion 1 Confirm. | Ion 2 Confirm. |
|---------------------|--|--------------|----------------|----------------|
| Androstanol | 5 α -androstan-3 β -ol | 333,3 | | |
| Coprostanol | 5 β -cholestan-3 β -ol | 370,4 | 355 | 215 |
| Epicoprostanol | 5 β -cholestan-3 α -ol | 370,4 | 355 | 215 |
| Coprostanona | 5 β -cholestan-3-one | 386,4 | 231 | 316 |
| Colesterol | cholest-5en-3 β -ol | 329,3 | 458 | 368 |
| Colestanol | 5 α -cholestan-3 β -ol | 445,5 | 460 | 355 |
| Colestanona | 5 α -cholestan-3-one | 386,4 | 231 | 371 |
| Campesterol | 24-methylcholest-5,22-dien-3 β -ol | 382,4 | 343 | 367 |
| Estigmasterol | 24-ethylcholest-5,22(E)-dien-3 β -ol | 394,3 | 484 | 355 |
| β -sitosterol | 24-ethylcholest-5-en-3 β -ol | 396,4 | 357 | 486 |

7.2.5.2 Determinação quantitativa dos esteróis

A análise quantitativa foi feita medindo a área dos íons de quantificação de todos os compostos (padrão interno e analitos) em cada amostra e considerando os fatores de resposta relativos a cada composto (Anexo 2).

Cálculo dos fatores de resposta relativos

A quantificação dos esteróis foi feita com base no androstanol (androstan-3 β -ol), adicionado diretamente ao sedimento antes da extração (padrão surrogado). Foi calculado o **fator de resposta relativo** (FRR) entre o androstanol e aos outros esteróides analisados (listados na Tabela 7). O FRR foi calculado segundo a fórmula:

$$FRR = \left(\frac{A_{esterol}}{A_{padr\tilde{a}o_surrogado}} \right) \times \left(\frac{C_{padr\tilde{a}o_surrogado}}{C_{esterol}} \right)$$

onde:

- ❖ $A_{esterol}$ e $A_{padr\tilde{a}o_surrogado}$ são as áreas obtidas para os íons de quantificação do esterol de interesse e do androstanol, respectivamente;
- ❖ $C_{esterol}$ e $C_{padr\tilde{a}o_surrogado}$ são as concentrações de androstanol e dos outros esteróides, respectivamente.

O cálculo do FRR foi realizado injetando-se uma solução contendo o padrão surrogado (androstanol) e os demais esteróides analisados, nas concentrações das curvas de calibração.

O sinal gerado em CG/MS varia significativamente em função das condições operacionais. Em função disto, o valor de FRR foi verificado após a análise de 10 amostras e a quantificação feita pela média entre os FRR's do início e do final de cada série. Na Tabela 8 estão listados os FRR's obtidos ao longo do trabalho. Foi observado que a maioria teve variação entre 10% e 12%, sendo estes valores aceitáveis pelo método. É importante ressaltar que os valores da coprostanona e da colestano (estano) foram os que apresentaram valores mais altos, concordando com Carreira (2000).

Tabela 8 – Variação dos fatores de resposta obtidos ao longo do trabalho

| Esterol | n | média | D.P. | C.V. (%) |
|----------------|---|-------|------|----------|
| Coprostanol | 7 | 0,87 | 0,04 | 4,84 |
| Epicoprostanol | 7 | 0,71 | 0,03 | 4,17 |
| Coprostanona | 7 | 0,21 | 0,02 | 9,98 |
| Colesterol | 7 | 0,37 | 0,03 | 8,97 |
| Colestanol | 7 | 0,23 | 0,01 | 5,22 |
| Colestanona | 7 | 0,18 | 0,02 | 11,26 |
| Campesterol | 7 | 0,21 | 0,01 | 5,26 |
| Estigmasterol | 7 | 0,19 | 0,00 | 3,70 |
| β-sitosterol | 7 | 0,26 | 0,01 | 4,89 |

D.P. – desvio padrão; C.V.- coeficiente de variação

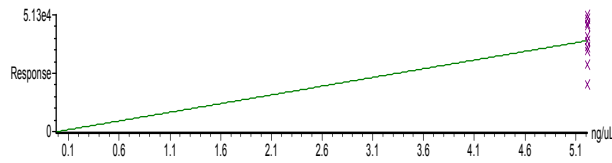
Calibração do instrumento

A faixa linear do instrumento foi verificada pela construção de curvas a partir das soluções padrões usada no cálculo do FRR (Tabela 9). Estas curvas foram feitas no início do trabalho e, no decorrer deste, alguns pontos foram repetidos junto às amostras para verificar a repetibilidade dos resultados (Anexo 1). Na Figura 12 são apresentados os gráficos das curvas de calibração.

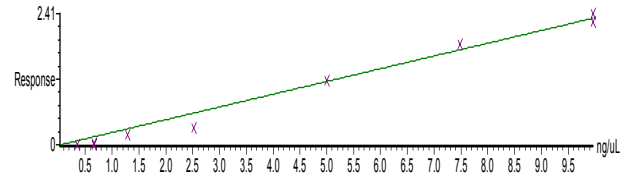
Tabela 9 – Concentrações ($\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) de cada esteróide na solução estoque.

| Nome | Solução Trabalho | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 |
|----------------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | | 0 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Androstanol | 52,30 | 5,23 | 5,23 | 5,23 | 5,23 | 5,23 | 5,23 | 5,23 | 5,23 |
| Coprostanol | 10,20 | 0,00 | 0,26 | 0,51 | 1,02 | 2,04 | 4,08 | 6,12 | 8,16 |
| Epicoprostanol | 12,60 | 0,00 | 0,32 | 0,63 | 1,26 | 2,52 | 5,04 | 7,56 | 10,08 |
| Coprostanona | 13,00 | 0,00 | 0,33 | 0,65 | 1,30 | 2,60 | 5,20 | 7,80 | 10,40 |
| Colesterol | 12,20 | 0,00 | 0,31 | 0,61 | 1,22 | 2,44 | 4,88 | 7,32 | 9,76 |
| Colestanol | 12,40 | 0,00 | 0,31 | 0,62 | 1,24 | 2,48 | 4,96 | 7,44 | 9,92 |
| Colestanona | 12,80 | 0,00 | 0,32 | 0,64 | 1,28 | 2,56 | 5,12 | 7,68 | 10,24 |
| Campesterol | 12,80 | 0,00 | 0,32 | 0,64 | 1,28 | 2,56 | 5,12 | 7,68 | 10,24 |
| Estigmasterol | 12,40 | 0,00 | 0,31 | 0,62 | 1,24 | 2,48 | 4,96 | 7,44 | 9,92 |
| b-Sitosterol | 12,20 | 0,00 | 0,31 | 0,61 | 1,22 | 2,44 | 4,88 | 7,32 | 9,76 |

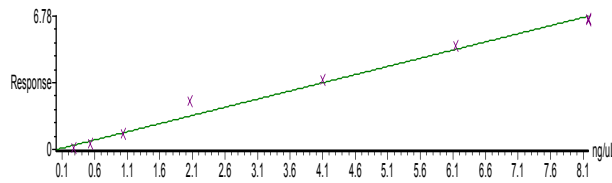
Compound 1 name: Androstanol
 Response Factor: 7641.04
 Response type: External Std, Area
 Curve type: RF



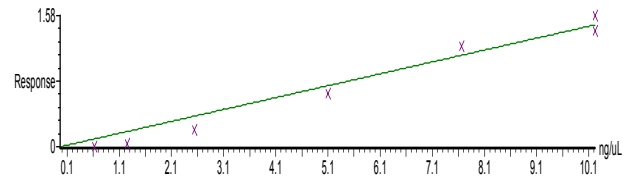
Compound 6 name: Colestanol
 Coefficient of Determination: 0.982128
 Calibration curve: $0.234160 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



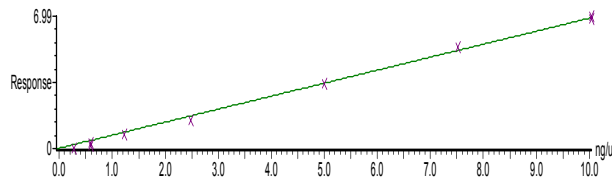
Compound 2 name: Coprostanol
 Coefficient of Determination: 0.987304
 Calibration curve: $0.830574 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



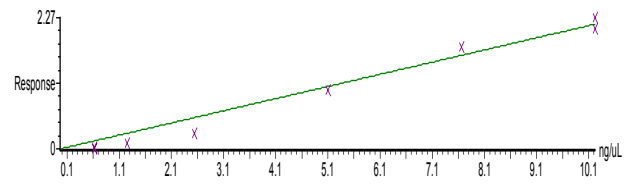
Compound 7 name: Colestanona
 Coefficient of Determination: 0.966890
 Calibration curve: $0.143098 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



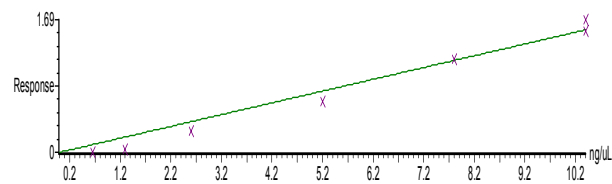
Compound 3 name: Epicooprostanol
 Coefficient of Determination: 0.995811
 Calibration curve: $0.685761 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



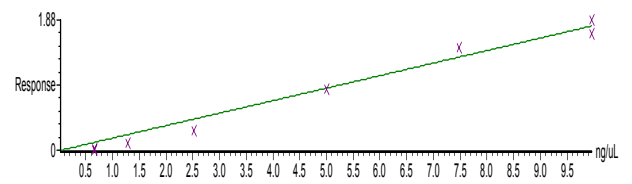
Compound 8 name: Campesterol
 Coefficient of Determination: 0.972875
 Calibration curve: $0.210590 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



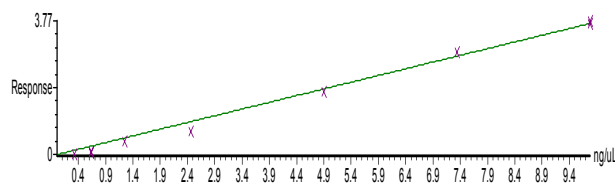
Compound 4 name: Coprostanona
 Coefficient of Determination: 0.974190
 Calibration curve: $0.150657 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 9 name: Estigmesterol
 Coefficient of Determination: 0.975845
 Calibration curve: $0.180801 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 5 name: Colessterol
 Coefficient of Determination: 0.990781
 Calibration curve: $0.379238 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None



Compound 10 name: b-Sitosterol
 Coefficient of Determination: 0.977951
 Calibration curve: $0.267873 * x + 0$
 Response type: Internal Std (Ref 1), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighting: Null, Axis trans: None

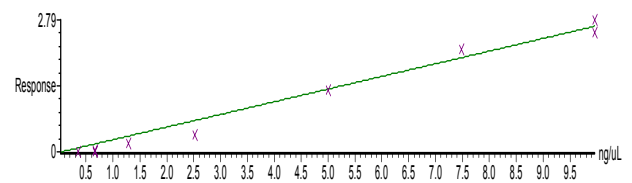


Figura 12 – Curvas de calibração dos padrões de esteróides

7.3 Análise de carbono orgânico

7.3.1 Limpeza da vidraria

A vidraria foi lavada e enxaguada com água corrente. Uma solução de ácido clorídrico (20% v/v) foi preparada com água Milli-Q. As vidrarias foram imersas nesta solução durante dois dias. Posteriormente, estas foram enxaguadas e imersas por dois dias em água Milli-Q e secas em estufa.

7.3.2 Preparo das amostras

As amostras de sedimento foram quarteadas, maceradas e colocadas em placas de petri previamente limpas. Estas foram colocadas na estufa a 105°C por 24 horas.

7.3.3 Descarbonatação das amostras

As placas de petri contendo a amostra foram fumegadas por 24 h em um dessecador contendo ácido clorídrico concentrado para a remoção de carbono inorgânico. Posteriormente, as amostras foram colocadas na estufa a 50°C por 24 horas e armazenadas em um dessecador até a análise no CHNS.

7.3.4 Análise Instrumental

O teor de carbono orgânico foi determinado no analisador automático CHNS marca Perkin Elmer 2400 Série II (Figura 13). Aproximadamente 2,5 a 3,0 mg de amostra foram pesadas em balança analítica e colocadas no aparelho, sendo estas analisadas no modo CHN.

Amostras de referência certificadas MESS (2,99% de C) e acetanilida (71,06% de C) foram analisadas para validação do método. A recuperação das

amostras de referência para o MESS foi em torno de 120% e para acetanilida em torno de 105%.



Figura 13 – Analisador CHNS Perkin Elmer 2400 Série II

7.4 Tratamento estatístico dos dados

Foi aplicada uma análise de componentes principais (ACP) aos 9 parâmetros analisados em todas as amostras de sedimento coletadas em diferentes datas e locais de coleta. Esta análise multivariada trata das relações internas de um conjunto inicial de variáveis correlacionadas por um conjunto menor de fatores, ou variáveis hipotéticas, que explicam a maior parte da variância do conjunto original, permitindo examinar de modo simplificado a globalidade das variáveis e amostras em estudos ambientais. O programa utilizado nas análises estatísticas foi o STATISTICS 6.0.

Concluída a análise de componentes principais, foram gerados gráficos no qual estão distribuídos os parâmetros analisados e os locais de coleta em função dos fatores gerados pela mesma.

8. Resultados

8.1 Carbono orgânico (C_{org}) e nitrogênio total (N_{total})

Os teores de C_{org} e N_{total} podem ser de origem natural ou antrópica, (expresso em percentagem da massa de sedimento analisado), representam as quantidades de carbono e nitrogênio associados aos compostos orgânicos presentes nas amostras analisadas.

Sabendo-se que a concentração de matéria orgânica presente no sedimento é decorrente da produção, transporte e decomposição, o aumento na relação C/N é devido, provavelmente, ao aumento da contaminação na Baía. Os teores de C_{org} e N_{total} das amostras que pertencem ao Grupo S (agosto/2003) variaram entre 0,38 e 3,98% e 0,14 e 0,45%, respectivamente. A relação C/N variou entre 1,0 e 9,1, sendo o maior valor encontrado na estação S1, que está localizado acima de Antonina (Figuras 14, 15 e 16).

Os resultados das amostras que pertencem ao Grupo T (fevereiro/2004) apresentaram teores de C_{org} e N_{total} variando entre 0,5 e 1,5% e 0,2 e 0,4%, respectivamente, enquanto que a relação C/N variou entre 2,9 e 4,1 (Figuras 14, 15 e 16). Os teores de C_{org} e N_{total} das 10 amostras que pertencem ao Grupo R (Novembro/2004) variaram entre 0,5 e 2,8% e 0,2 e 0,4%, respectivamente. A relação C/N foi mais alta na estação R17a (Ilha Rasa - Laranjeiras), onde o valor encontrado foi de 11,1. Os resultados das amostras que pertencem ao Grupo P (Dezembro/2004 e Janeiro/2005) apresentaram teores de C_{org} e N_{total} variando entre 0,23 e 5,2% e 0,2 e 0,6%, respectivamente. A relação C/N variou entre 1,3 e 9,4 (Figuras 14, 15 e 16).

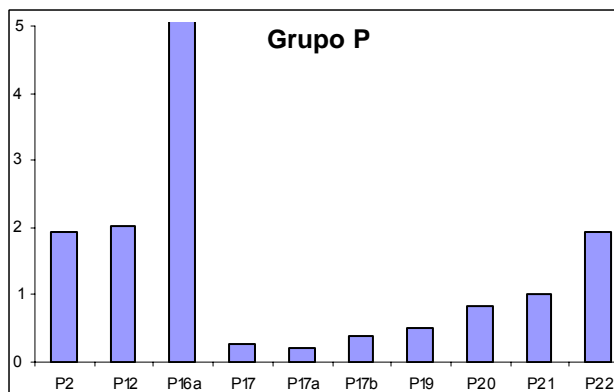
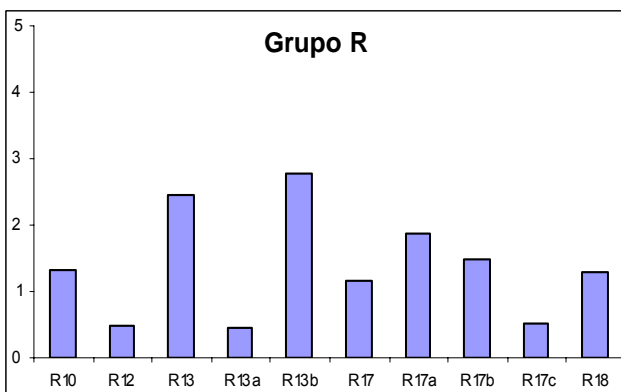
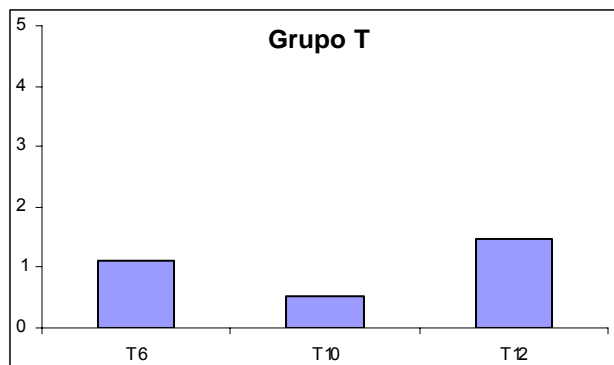
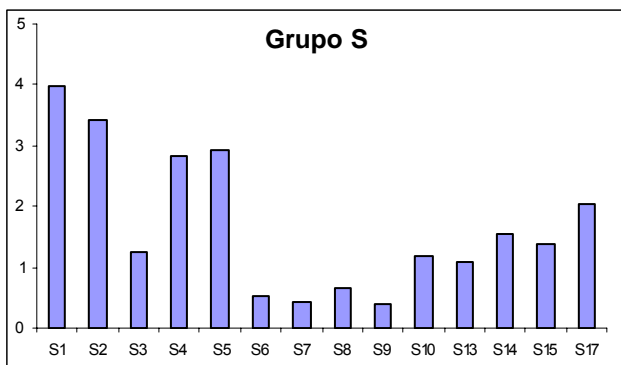


Figura 14 - Teor de carbono orgânico (%) nas amostras de sedimento da Baía de Paranaguá

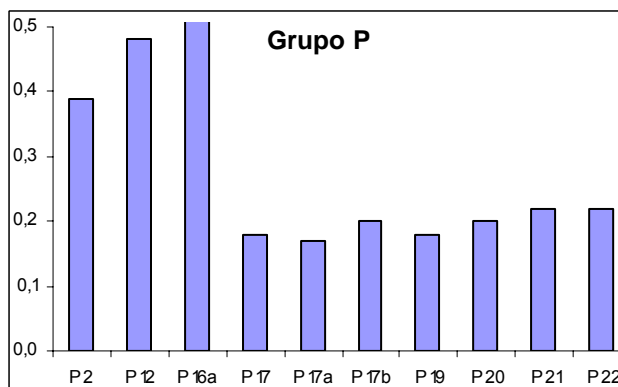
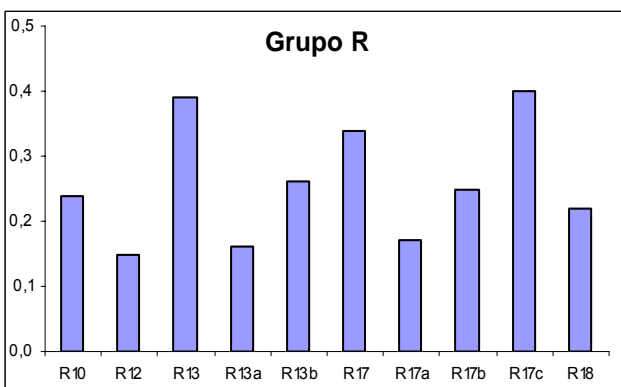
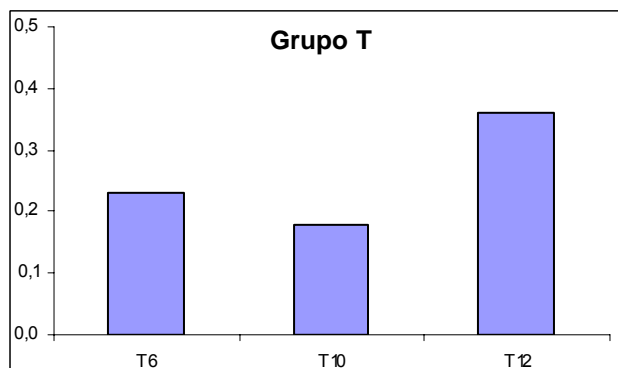
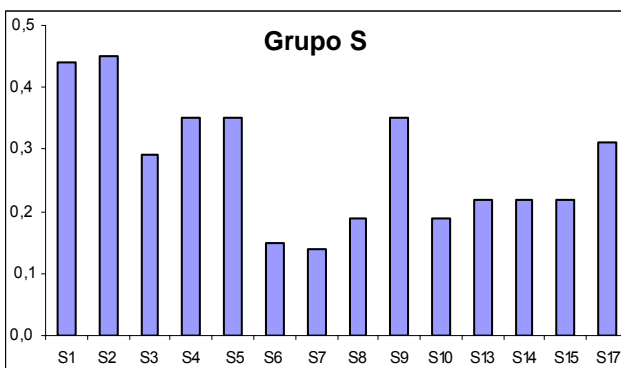


Figura 15 - Teor de nitrogênio total (%) nas amostras de sedimento da Baía de Paranaguá

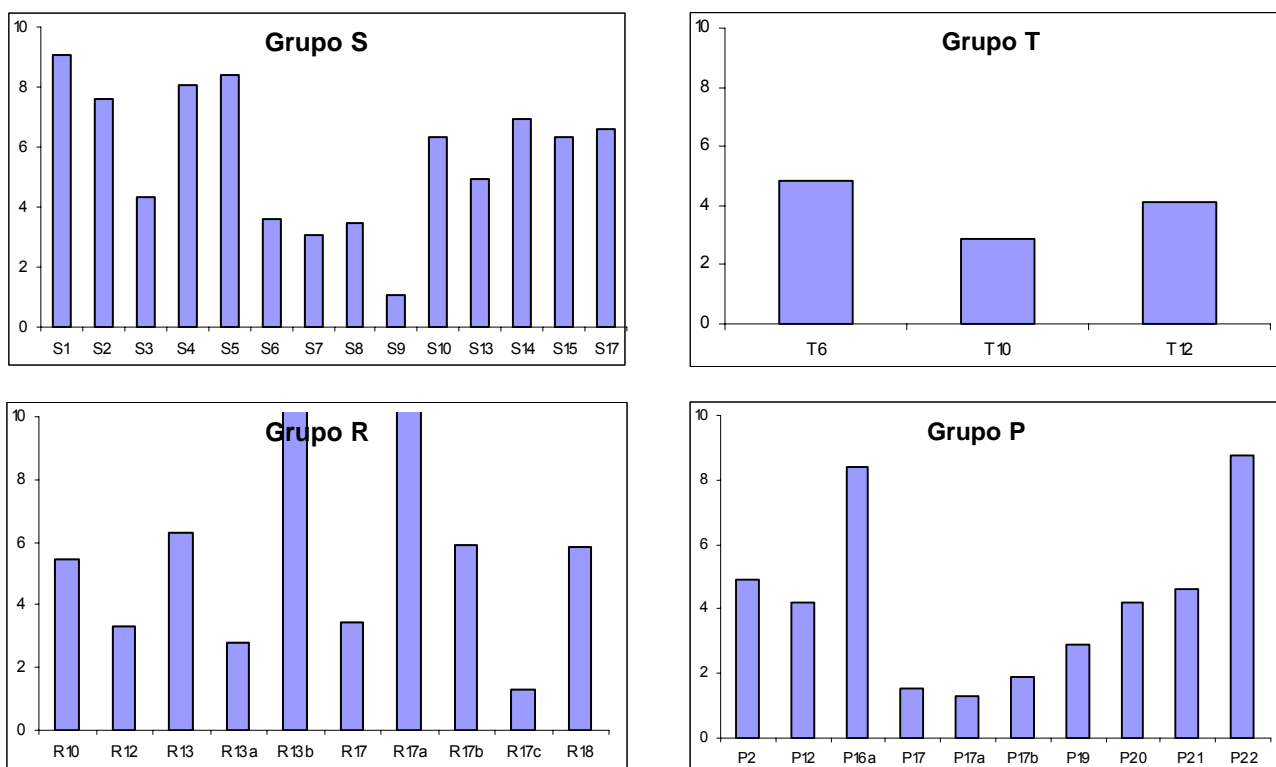


Figura 16 - Relação C:N nas amostras de sedimento da Baía de Paranaguá

8.2 Esteróides

Os resultados referentes aos esteróides são apresentados por período de amostragem, incluindo os esteróides individuais (ng.g^{-1} peso seco), esteróides totais, esteróis totais (OLs-totais – não inclui a coprostanona e a colestanona) e uma seleção de razões entre os esteróides (Tabelas 10, 11, 12 e 13 e Figuras 17, 18, 19 e 20).

8.2.1 Grupo S (Agosto/2003)

Concentrações elevadas de coprostanol foram encontradas nas estações S1 (acima de Antonina), S6 (Saída do Anhaia), S9 (Centro de Paranaguá), S10 (Saída do Itiberê) e S14 (Marinas Pontal do Sul), variando entre 209,2 (S1 - acima de Antonina) e 2222,0 ng.g^{-1} (S6 – Saída do Anhaia). As demais

estações apresentaram níveis mais baixos de concentração, variando entre 3,7 e 10,7 ng.g⁻¹ (Tabela 10 e Figura 17).

O epicoprostanol foi detectado em todos os pontos de amostragem com valores entre 0,15 e 127,9 ng.g⁻¹.

Os demais esteróides apresentaram uma ampla faixa de concentrações, sendo que os níveis mais altos de campesterol (2768,2 ng.g⁻¹), estigmasterol (1352,1 ng.g⁻¹) e β -sitosterol (1882,8 ng.g⁻¹), que são de origem natural, o colestanol (2784,0 ng.g⁻¹), que têm origem direta ou indireta (por transformação diagenética) em esgoto doméstico, e o colesterol (4472,4 ng.g⁻¹) foram encontrados na estação S14 (Marinas Pontal do Sul). Os esteróis totais variaram entre 332,0 e 14643,1 ng.g⁻¹, sendo a maior parte destes valores atribuídos aos esteróides não fecais (Tabela 10 e Figura 17).

Tabela 10 – Concentrações (ng.g⁻¹ peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em Agosto/2003 (Grupo S)

| Código da amostra | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S12 | S13 | S14 | S15 | S17 |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|----------|---------|---------|
| Esteróides | | | | | | | | | | | | | | | |
| Coprostanol | 209,16 | 3,76 | 10,65 | 27,53 | 44,93 | 2222,03 | 42,22 | 3,72 | 573,20 | 453,88 | 3,89 | 4,95 | 665,70 | 180,51 | 17,29 |
| Epicoprostanol | 32,12 | <L.D | 1,27 | 4,91 | 12,36 | 127,88 | 4,20 | <L.D | 25,84 | 25,51 | <L.D | <L.D | 120,09 | 12,57 | 3,18 |
| Coprostanona | 600,72 | 4,24 | 17,28 | 45,20 | 20,91 | 918,81 | 18,88 | <L.D | 86,29 | 208,66 | <L.D | 1,18 | 535,40 | 70,22 | 9,54 |
| Colesterol | 3497,12 | 1146,28 | 836,56 | 925,56 | 859,40 | 1264,32 | 1789,68 | 96,41 | 729,92 | 667,08 | 243,15 | 226,01 | 4472,37 | 962,47 | 1015,94 |
| Colestanol | 787,22 | 75,52 | 147,07 | 330,37 | 792,12 | 387,04 | 248,51 | 45,11 | 359,10 | 220,17 | 74,55 | 118,11 | 2784,00 | 348,60 | 355,24 |
| Colestanona | 433,88 | 7,17 | 89,67 | 119,61 | 216,30 | 158,98 | 43,98 | <L.D | 13,32 | 81,49 | 6,13 | 12,93 | 791,15 | 55,16 | 52,94 |
| Campesterol | 1554,22 | 576,75 | 239,87 | 573,95 | 992,98 | 391,84 | 940,67 | 33,01 | 187,39 | 224,74 | 140,37 | 197,49 | 2768,20 | 677,68 | 820,38 |
| Estigmasterol | 961,88 | 415,04 | 211,55 | 623,25 | 501,35 | 320,08 | 1242,56 | 8,61 | 120,74 | 260,52 | 133,96 | 293,14 | 1352,06 | 347,35 | 490,63 |
| β-Sitosterol | 51,20 | 599,49 | 207,26 | 1882,82 | 1861,02 | 598,67 | 2740,55 | 145,15 | 785,67 | 881,46 | 410,21 | 1228,97 | 1154,08 | 1140,61 | 1228,58 |
| Totais | 8127,53 | 2828,66 | 1761,18 | 4533,20 | 5301,37 | 6389,65 | 7071,24 | 332,66 | 2881,47 | 3023,52 | 1013,13 | 2083,04 | 14643,05 | 3795,17 | 3993,72 |
| OLs totais | 7092,93 | 2817,25 | 1654,22 | 4368,39 | 5064,16 | 5311,86 | 7008,37 | 332,00 | 2781,86 | 2733,37 | 1006,28 | 2068,93 | 13316,50 | 3669,79 | 3931,24 |
| % Carbono orgânico | | | | | | | | | | | | | | | |
| % Carbono orgânico | 4,2% | 3,9% | 1,3% | 3,1% | 2,9% | 0,7% | 0,5% | 0,4% | 0,4% | 1,2% | n.d | 1,1% | 1,5% | 1,4% | 2,0% |
| % Nitrogênio total | | | | | | | | | | | | | | | |
| % Nitrogênio total | 0,4% | 0,5% | 0,3% | 0,4% | 0,4% | 0,2% | 0,2% | 0,1% | 0,4% | 0,2% | n.d | 0,2% | 0,2% | 0,2% | 0,3% |
| Relações | | | | | | | | | | | | | | | |
| %(cop+e-cop)/OLs totais | 3,1% | 0,2% | 0,7% | 0,7% | 1,1% | 44,2% | 0,7% | 1,1% | 21,5% | 17,5% | 0,4% | 0,3% | 5,9% | 5,3% | 0,5% |
| cop/e-cop | 6,51 | - | 8,39 | 5,61 | 3,64 | 17,38 | 10,06 | - | 22,18 | 17,79 | - | - | 5,54 | 14,35 | 5,44 |
| e-cop/cop | 0,15 | - | 0,12 | 0,18 | 0,28 | 0,06 | 0,10 | - | 0,05 | 0,06 | - | - | 0,18 | 0,07 | 0,18 |
| Cop/Corg | 50,16 | 6,96 | 8,45 | 8,79 | 15,33 | 3366,71 | 30,37 | 0,65 | 1061,48 | 378,23 | - | 13,03 | 435,10 | 165,61 | 8,48 |
| %cop/esteróides totais | 2,6% | 0,1% | 0,6% | 0,6% | 0,6% | 34,8% | 0,6% | 1,1% | 19,9% | 15,0% | 0,4% | 0,2% | 4,6% | 4,8% | 0,4% |
| cop/(cop+e-cop) | 0,87 | 0,90 | 0,89 | 0,85 | 0,78 | 0,95 | 0,91 | 1,00 | 0,96 | 0,95 | 0,96 | 0,95 | 0,85 | 0,93 | 0,84 |
| cop/colesterol | 0,06 | 0,00 | 0,01 | 0,03 | 0,05 | 1,76 | 0,02 | 0,04 | 0,79 | 0,68 | 0,02 | 0,02 | 0,15 | 0,19 | 0,02 |
| Colestanol/colesterol | 0,23 | 0,07 | 0,18 | 0,36 | 0,92 | 0,31 | 0,14 | 0,47 | 0,49 | 0,33 | 0,31 | 0,52 | 0,62 | 0,36 | 0,35 |
| Cop/(colestanol+cop) | 0,21 | 0,05 | 0,07 | 0,08 | 0,05 | 0,85 | 0,15 | 0,08 | 0,61 | 0,67 | 0,05 | 0,04 | 0,19 | 0,34 | 0,05 |
| Coprostanona/(colestanona+coprostanona) | 0,58 | 0,37 | 0,16 | 0,27 | 0,09 | 0,85 | 0,30 | - | 0,87 | 0,72 | 0,11 | 0,08 | 0,40 | 0,56 | 0,15 |

Cop – coprostanol; e-cop – epicoprostanol; Corg – carbono orgânico; OLs totais – esteróis totais; <L.D –abaixo do limite de detecção; n.d – não determinado

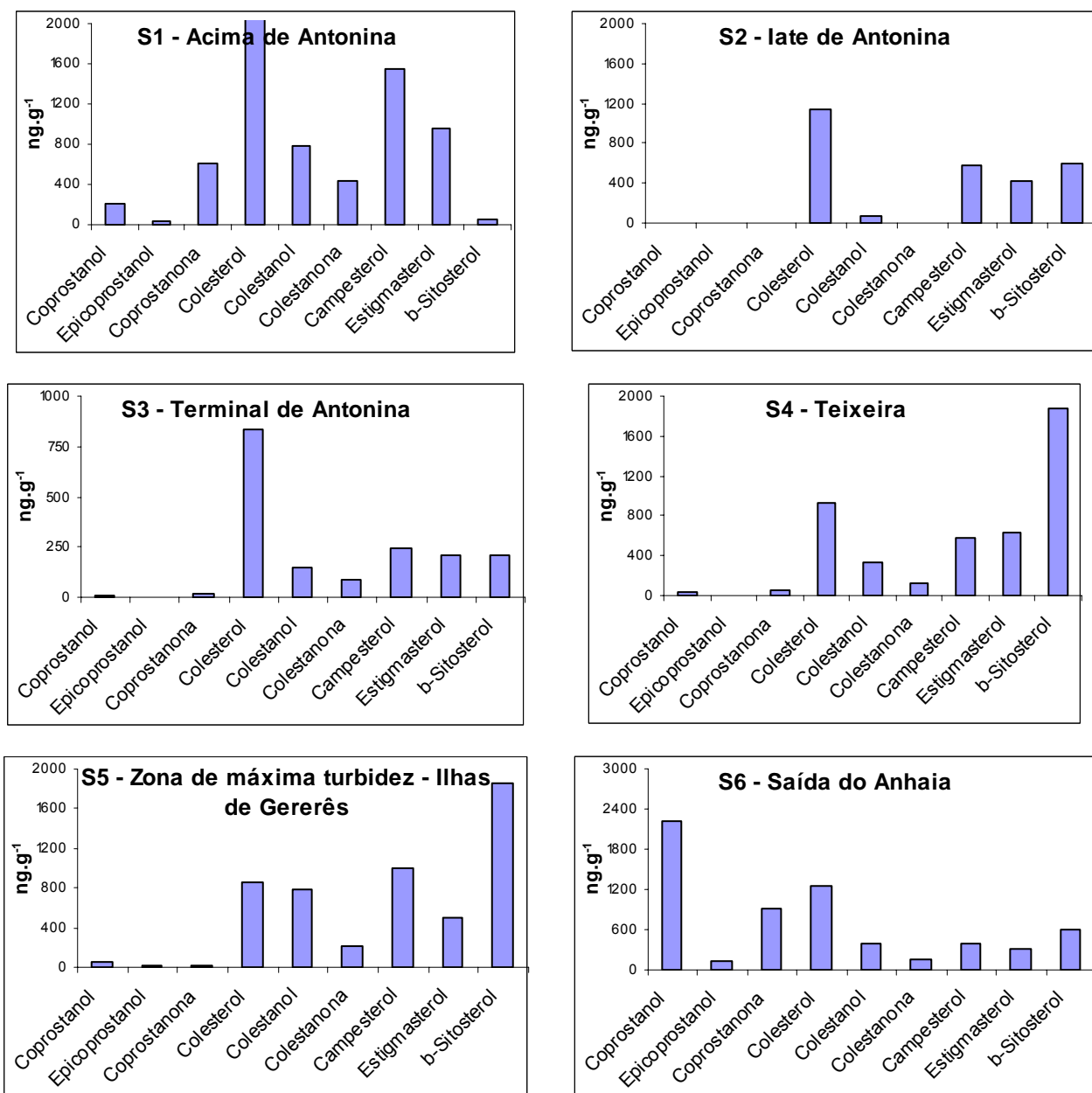


Figura 17 – Concentração de esteróides (ng.g⁻¹ peso seco) nos sedimentos coletados em Agosto/2003 (Grupo S)

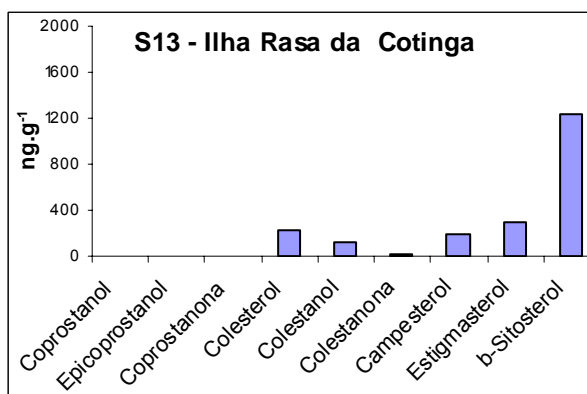
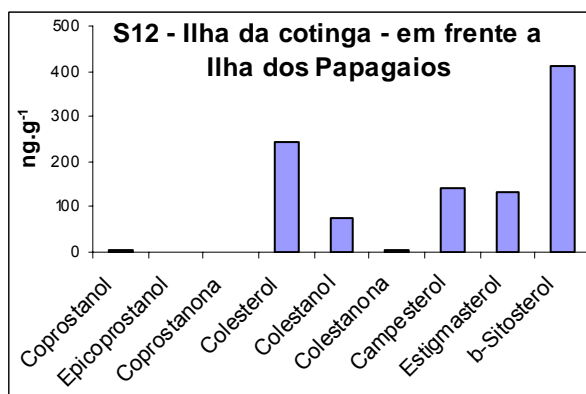
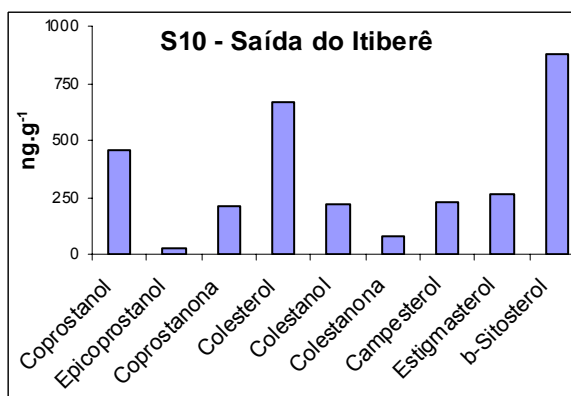
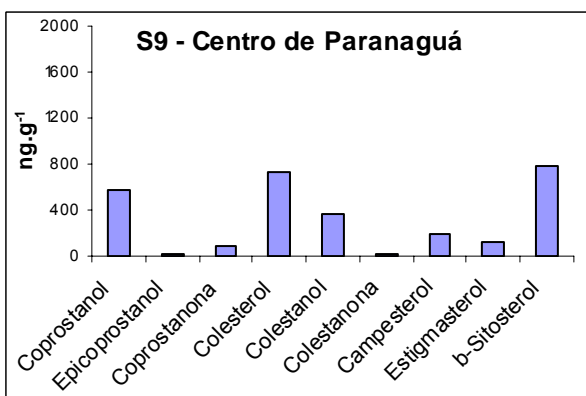
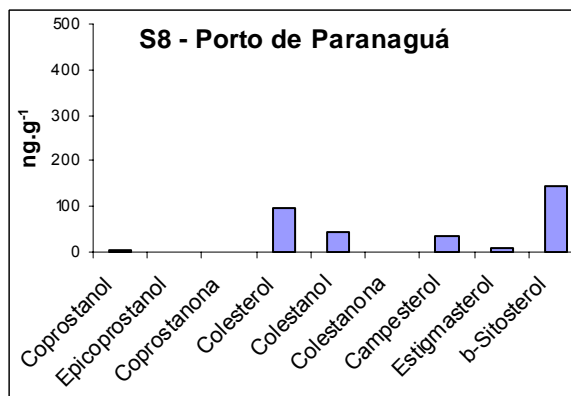
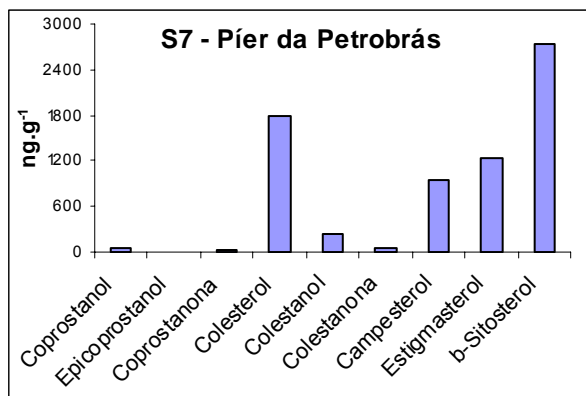


Figura 17 (Cont.) – Concentração de esteróides (ng.g⁻¹ peso seco) nos sedimentos coletados em Agosto/2003 (Grupo S)

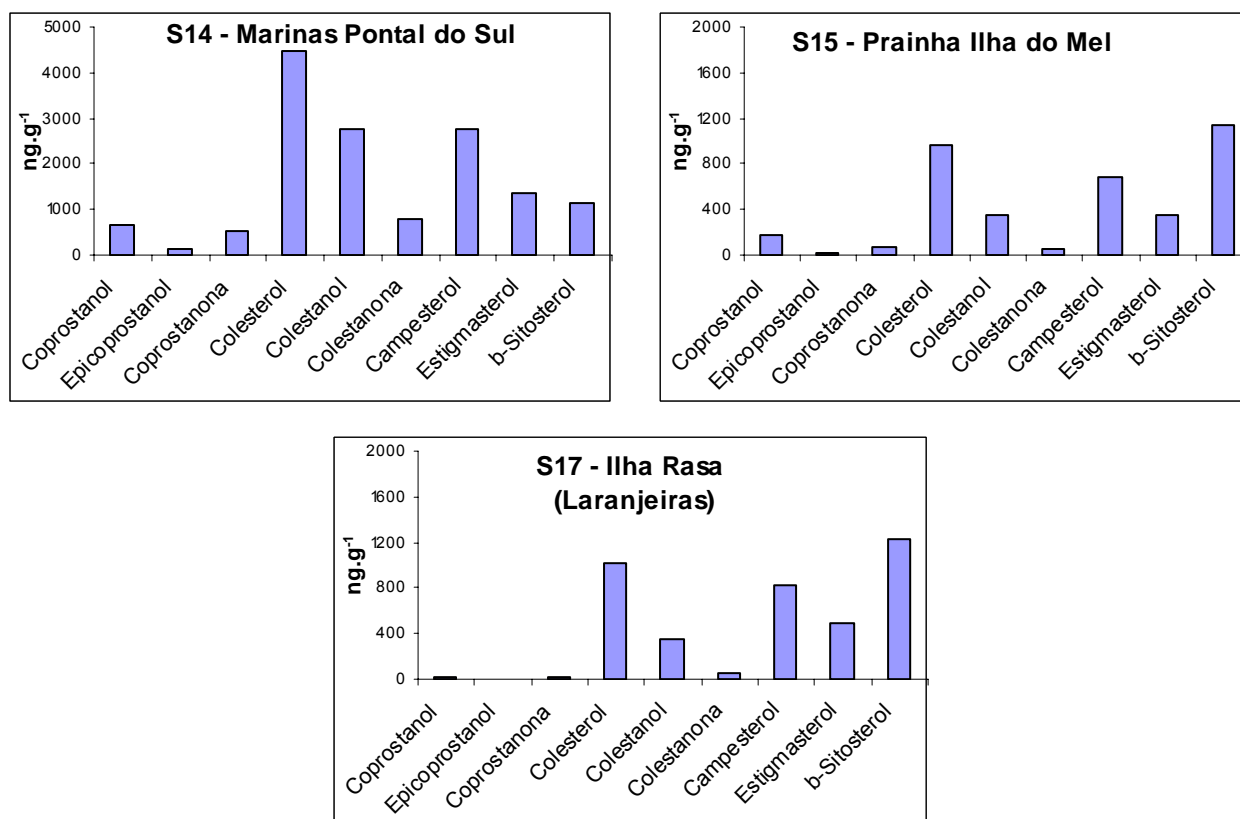


Figura 17 (Cont.) – Concentração de esteróides (ng.g⁻¹ peso seco) nos sedimentos coletados em Agosto/2003 (Grupo S)

8.2.2 Grupo T (Fevereiro/2004)

As maiores concentrações de esteróides individuais e totais foram encontradas na estação T6 (Saída do Anhaia), enquanto que os menores valores estiveram associados à estação coletada na Baía de Laranjeiras (T16 – Saída do Benito - Laranjeiras) (Tabela 11 e Figura 18). A concentração de esteróis totais (OLs-totais) variou entre 1430,7 e 6799,3 ng.g⁻¹, sendo o valor máximo encontrado na estação T6 (Saída do Anhaia). Já os teores de coprostanol e epicoprostanol variaram entre 7,9 e 2148,9 ng.g⁻¹ e 1,6 e 118,9 ng.g⁻¹, respectivamente (Tabela 11).

Os esteróis de origem natural (terrestre ou marinha) atingiram concentrações que variaram entre 201,8 e 406,8 ng.g⁻¹ para o campesterol,

218,2 e 575,9 ng.g⁻¹ para o estigmasterol e 344,9 e 1694,9 ng.g⁻¹ para o β -sitosterol (Tabela 11).

Tabela 11 - Concentrações (ng.g⁻¹ peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em Fevereiro/2004 (Grupo T).

| Código da amostra | T6 | T10 | T12 | T16 |
|---|---------|---------|---------|---------|
| Esteróides | | | | |
| Coprostanol | 2148,94 | 687,99 | 487,40 | 7,86 |
| Epicoprostanol | 118,92 | 57,06 | 29,48 | 1,63 |
| Coprostanona | 391,73 | 341,49 | 219,70 | 19,36 |
| Colesterol | 1432,23 | 672,11 | 654,55 | 257,27 |
| Colestanol | 511,74 | 188,46 | 216,85 | 193,97 |
| Colestanona | 88,42 | 120,70 | 99,31 | 36,44 |
| Campesterol | 316,69 | 201,80 | 268,36 | 406,80 |
| Estigmasterol | 575,90 | 241,64 | 376,48 | 218,23 |
| β -Sitosterol | 1694,88 | 535,41 | 1037,10 | 344,97 |
| Totais | 7279,45 | 3046,67 | 3389,23 | 1486,52 |
| OLs totais | 6799,30 | 2584,47 | 3070,21 | 1430,73 |
| Relações | | | | |
| % Carbono orgânico | 1,1% | 0,5% | 1,5% | n.d |
| % Nitrogênio total | 0,2% | 0,2% | 0,4% | n.d |
| %(cop+e-cop)/OLs totais | 33,4% | 28,8% | 16,8% | 0,7% |
| cop/e-cop | 18,07 | 12,06 | 16,53 | 4,82 |
| e-cop/cop | 0,06 | 0,08 | 0,06 | 0,21 |
| cop/Corg | 1935,98 | 1323,06 | 329,32 | - |
| %cop/esteróides totais | 29,5% | 22,6% | 14,4% | 0,5% |
| Cop/(cop+e-cop) | 0,95 | 0,92 | 0,94 | 0,83 |
| cop/colesterol | 1,50 | 1,02 | 0,74 | 0,03 |
| Colestanol/colesterol | 0,36 | 0,28 | 0,33 | 0,75 |
| Cop/(colestanol+cop) | 0,81 | 0,78 | 0,69 | 0,04 |
| Coprostanona/(colestanona+coprostanona) | 0,82 | 0,74 | 0,69 | 0,35 |

Cop - coprostanol; e-cop - epicoprostanol; Corg - carbono orgânico; OLs totais - esteróis totais; <L.D –abaixo do limite de detecção; n.d – não determinado

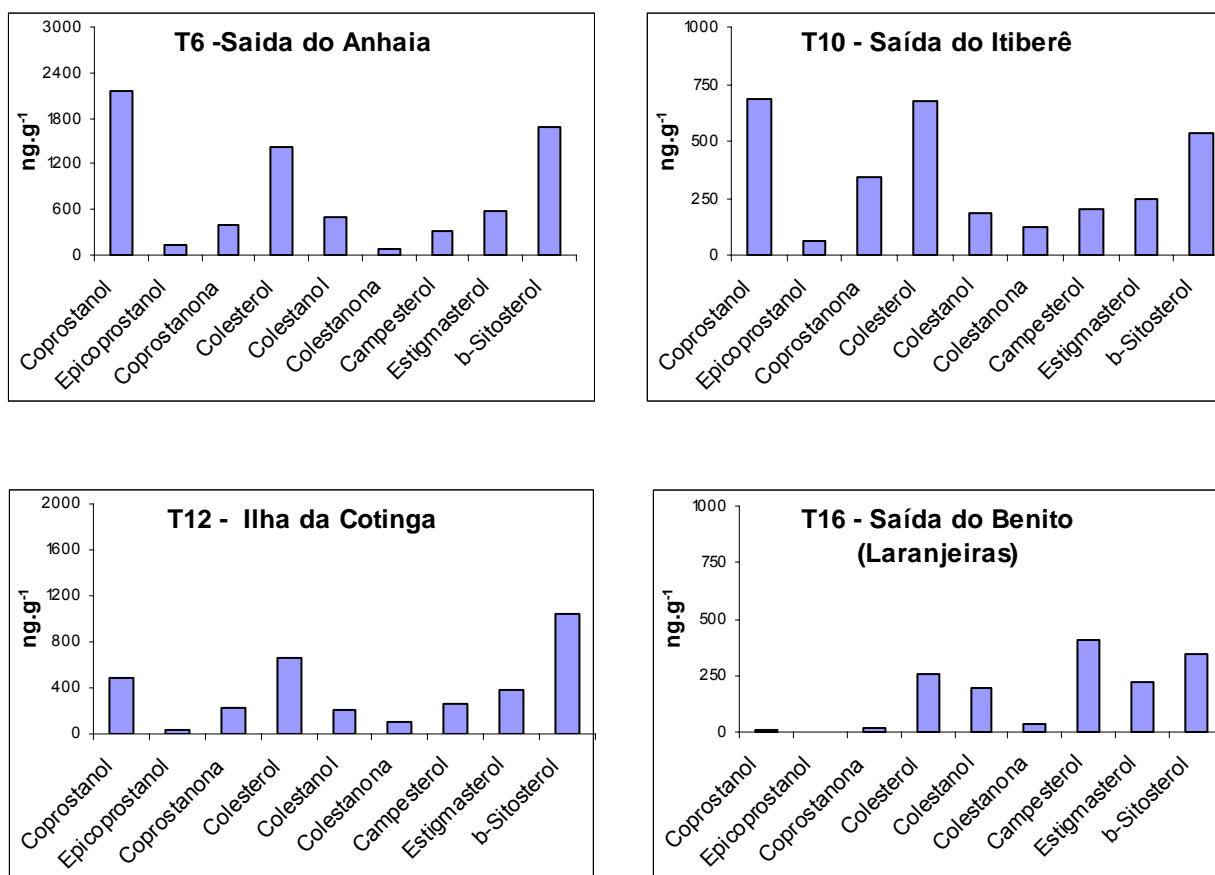


Figura 18 – Concentração de esteróides (ng.g⁻¹ peso seco) nos sedimentos coletados em Fevereiro/2004 (Grupo T)

8.2.3 Grupo R (Novembro/2004)

As concentrações dos esteróis totais (OLs-totais) variaram entre 899,0 e 2864,7 ng.g⁻¹, sendo o valor máximo encontrado na estação R17b (Ilha Rasa - Laranjeiras), e o menor na estação R12 (Ilha da Cotinga). A maior parte destes valores está relacionada aos esteróides não fecais (Tabela 12 e Figura 19).

Os maiores valores de coprostanol (186,7 ng.g⁻¹) e epicoprostanol (14,5 ng.g⁻¹) foram encontrados na estação R10 (Saída do Itiberê), enquanto que coprostanona (275,8 ng.g⁻¹) e colestanona (58,6 ng.g⁻¹) apresentaram os maiores valores na estação R17 (Ilha Rasa - Laranjeiras) (Tabela 12 e Figura 19).

Os esteróides de origem natural (terrestre ou marinha) atingiram concentrações que variaram entre 52,6 e 617,5 ng.g^{-1} para o campesterol, 156,9 e 858,2 ng.g^{-1} para o estigmasterol e 301,3 e 1370,2 ng.g^{-1} para o β -sitosterol (Tabela 12 e Figura 19).

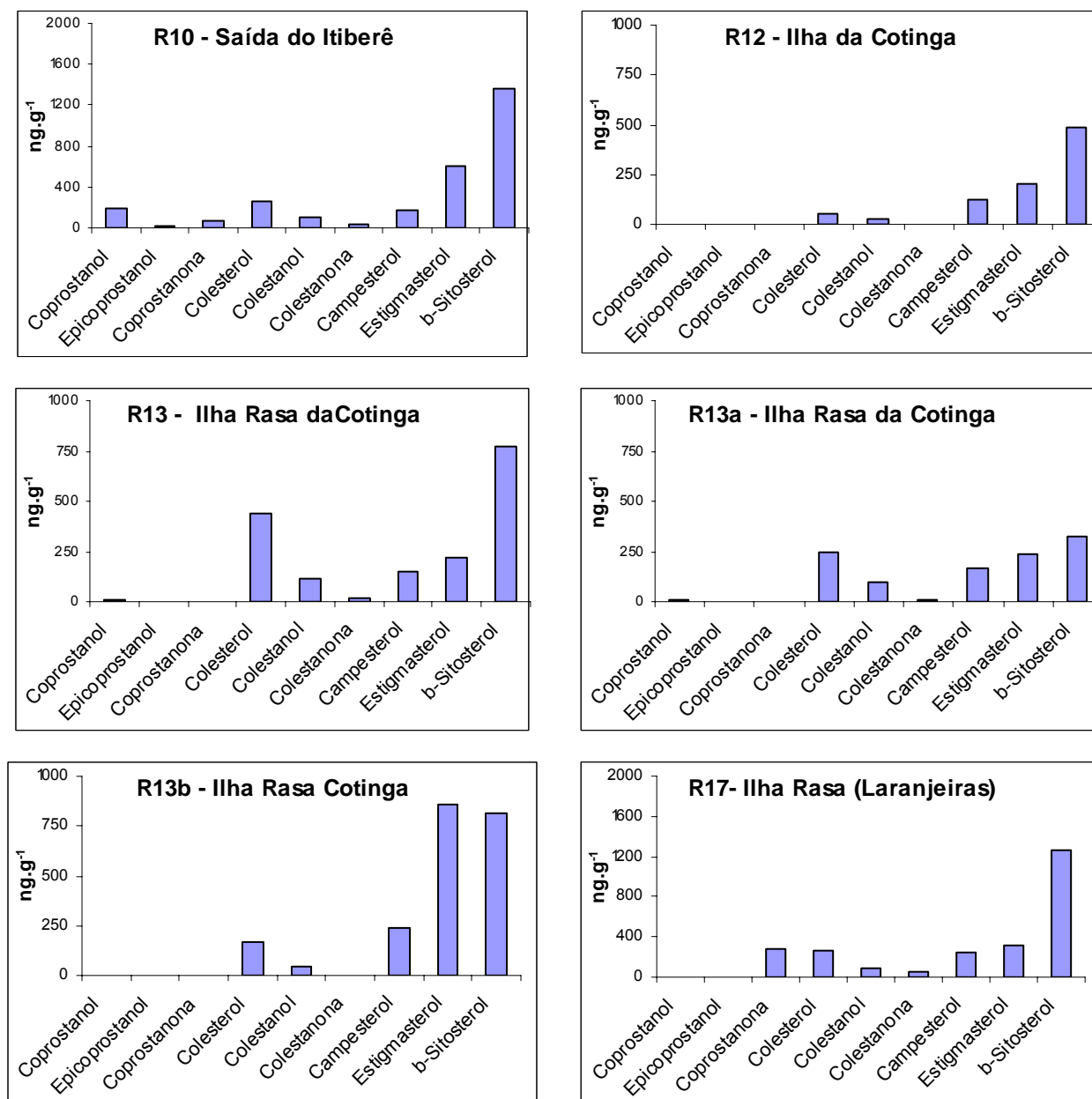


Figura 19 - Concentração de esteróides (ng.g^{-1} peso seco) nos sedimentos coletados em Novembro/2004 (Grupo R)

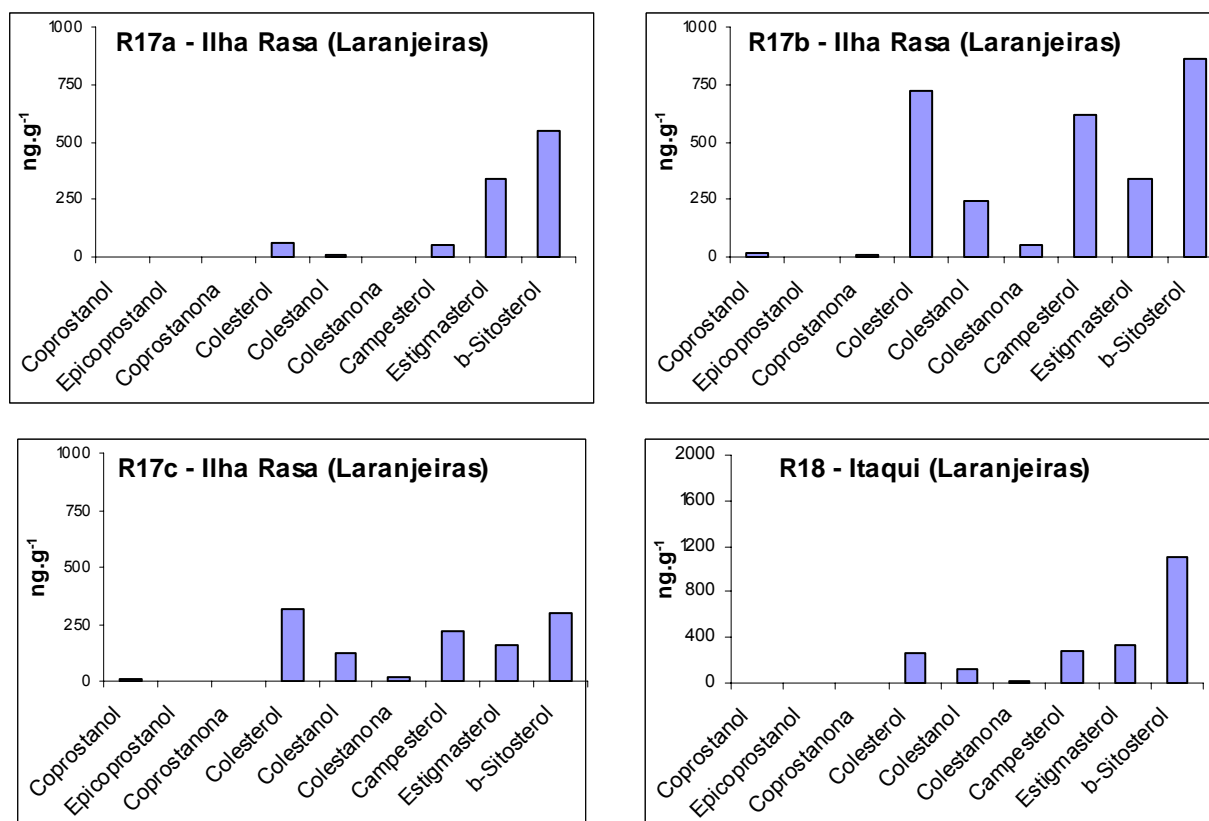


Figura 19 (Cont.) – Concentração de esteróides (ng.g^{-1} peso seco) nos sedimentos coletados em Novembro/2004 (Grupo R)

8.2.4 Grupo P (Dezembro/2004 e Janeiro/2005)

As concentrações de coprostanol e epicoprostanol variaram entre $<\text{LD}$ e $14,0 \text{ ng.g}^{-1}$ e $<\text{LD}$ e $6,3 \text{ ng.g}^{-1}$, respectivamente (Tabela 13 e Figura 20).

O β -sitosterol foi identificado em níveis mais elevados que o campesterol e o estigmasterol, sendo a concentração mais alta encontrada na estação P19 (Vila Fátima – $2.061,5 \text{ ng.g}^{-1}$) localizada na Baía de Laranjeiras (Tabela 13 e Figura 20).

Tabela 12 – Concentrações (ng.g⁻¹ peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em Novembro/2004 (Grupo R).

| Código da amostra | R10 | R12 | R13 | R13a | R13b | R17 | R17a | R17b | R17c | R18 |
|---|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Esteróides | | | | | | | | | | |
| Coprostanol | 186,71 | <L.D | 6,41 | 7,87 | 1,57 | 8,13 | <L.D | 13,11 | 4,83 | 5,52 |
| Epicoprostanol | 14,50 | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | 1,79 | <L.D | <L.D |
| Coprostanona | 75,31 | <L.D | 2,96 | 1,09 | <L.D | 275,75 | <L.D | 10,89 | 1,02 | 1,82 |
| Colesterol | 261,02 | 52,25 | 436,47 | 247,63 | 167,64 | 258,67 | 58,58 | 723,79 | 312,20 | 255,77 |
| Colestanol | 101,45 | 26,74 | 111,73 | 100,53 | 48,08 | 95,62 | 12,31 | 247,34 | 125,52 | 126,16 |
| Colestanona | 41,89 | <L.D | 14,80 | 7,74 | 3,06 | 58,55 | <L.D | 49,14 | 13,64 | 18,73 |
| Campesterol | 165,65 | 127,82 | 146,69 | 169,82 | 235,50 | 236,85 | 52,58 | 617,48 | 220,27 | 274,83 |
| Estigmasterol | 596,74 | 201,26 | 217,76 | 233,55 | 858,22 | 320,23 | 335,44 | 339,96 | 156,94 | 327,52 |
| β-Sitosterol | 1370,24 | 490,70 | 774,99 | 324,46 | 814,13 | 1269,06 | 547,71 | 861,16 | 301,29 | 1098,68 |
| Totais | 2813,51 | 899,48 | 1712,06 | 1093,08 | 2128,66 | 2522,96 | 1006,95 | 2864,65 | 1135,91 | 2109,45 |
| OLs totais | 2696,31 | 899,01 | 1694,30 | 1084,24 | 2125,21 | 2188,66 | 1006,69 | 2804,63 | 1121,25 | 2088,91 |
| Relações | | | | | | | | | | |
| % Carbono orgânico | 1,3% | 0,5% | 2,5% | 0,5% | 12,1% | 1,2% | 1,9% | 1,5% | 0,5% | 1,3% |
| % Nitrogênio total | 0,2% | 0,2% | 0,4% | 0,2% | 0,3% | 0,3% | 0,2% | 0,3% | 0,4% | 0,2% |
| %(cop+e-cop)/OLs totais | 7,5% | - | 0,4% | 0,8% | 0,1% | 0,4% | - | 0,5% | 0,5% | 0,3% |
| Cop/e-cop | 12,88 | - | - | - | - | - | - | 7,33 | - | - |
| e-cop/cop | 0,08 | - | - | - | - | - | - | 0,14 | - | - |
| cop/Corg | 142,53 | 0,48 | 2,61 | 17,48 | 0,13 | 7,01 | 0,04 | 8,86 | 9,11 | 4,31 |
| %cop/esteróides totais | 6,6% | - | 0,4% | 0,7% | 0,1% | 0,3% | - | 0,5% | 0,4% | 0,3% |
| cop/(cop+e-cop) | 0,93 | 1,00 | 0,96 | 0,96 | 0,96 | 0,99 | 1,00 | 0,88 | 0,96 | 0,93 |
| cop/colesterol | 0,72 | - | 0,01 | 0,03 | 0,01 | 0,03 | - | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Colestanol/colesterol | 0,39 | 0,51 | 0,26 | 0,41 | 0,29 | 0,37 | 0,21 | 0,34 | 0,40 | 0,49 |
| Cop/(colestanol+cop) | 0,65 | 0,01 | 0,05 | 0,07 | 0,03 | 0,08 | 0,01 | 0,05 | 0,04 | 0,04 |
| Coprostanona/(colestanona+coprostanona) | 0,64 | - | 0,17 | 0,12 | 0,11 | 0,82 | - | 0,18 | 0,07 | 0,09 |

Cop – coprostanol; e-cop – epicoprostanol; Corg – carbono orgânico; OLs totais – esteróis totais; <L.D – abaixo do limite de detecção

Tabela 13– Concentrações (ng.g⁻¹ peso seco) e principais razões de esteróides para sedimentos coletados em (Dezembro/2004 e Janeiro/2005) (Grupo P).

| Código da amostra | P2 | P12 | P16a | P17 | P17a | P17b | P19 | P20 | P21 | P22 |
|--|---------|---------|---------|--------|-------|--------|---------|--------|---------|---------|
| Esteróides | | | | | | | | | | |
| Coprostanol | 3,63 | 6,52 | 4,75 | <L.D | <L.D | 6,92 | 4,20 | 3,77 | 14,01 | 3,92 |
| Epicoprostanol | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | 6,29 | <L.D |
| Coprostanona | <L.D | 3,03 | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | <L.D | 17,64 | 2,07 |
| Colesterol | 250,89 | 332,66 | 157,14 | 47,05 | 23,18 | 152,09 | 71,97 | 109,75 | 906,61 | 492,64 |
| Colestanol | 92,39 | 110,73 | 99,20 | 25,03 | 1,84 | 67,38 | 63,00 | 31,15 | 431,00 | 90,43 |
| Colestanona | 8,49 | 17,78 | 7,70 | <L.D | <L.D | 2,72 | 1,63 | 1,33 | 74,28 | 11,37 |
| Campesterol | 157,69 | 205,13 | 155,71 | 33,12 | 6,48 | 89,20 | 73,73 | 39,17 | 699,67 | 300,26 |
| Estigmasterol | 258,14 | 394,98 | 236,43 | 52,15 | 18,78 | 97,46 | 140,28 | 64,48 | 721,56 | 242,70 |
| β-Sitosterol | 1319,50 | 1415,84 | 767,47 | 60,00 | 48,62 | 186,61 | 2061,50 | 322,89 | 1875,22 | 319,44 |
| Totais | 2091,60 | 2486,96 | 1429,22 | 217,43 | 98,92 | 602,93 | 2416,31 | 572,95 | 4746,27 | 1463,02 |
| OLs totais | 2082,50 | 2466,15 | 1420,93 | 217,43 | 98,92 | 599,80 | 2414,68 | 571,24 | 4654,35 | 1449,58 |
| % Carbono orgânico | | | | | | | | | | |
| % Carbono orgânico | 1,9% | 4,3% | 5,8% | 0,3% | 0,2% | 0,4% | 0,5% | 0,8% | 1,0% | 1,9% |
| % Nitrogênio total | | | | | | | | | | |
| % Nitrogênio total | 0,4% | 0,5% | 0,6% | 0,2% | 0,2% | 0,2% | 0,2% | 0,2% | 0,2% | 0,2% |
| Relações | | | | | | | | | | |
| %(cop+e-cop)/OLs totais | 0,2% | 0,3% | 0,4% | - | - | 0,1% | - | 0,7% | 0,4% | 0,3% |
| cop/e-cop | - | - | - | - | - | - | - | - | 2,23 | - |
| e-cop/cop | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,45 | - |
| cop/Corg | 1,89 | 1,51 | 0,82 | 0,28 | 0,09 | 18,21 | 8,07 | 4,49 | 13,74 | 2,03 |
| %cop/esteróides totais | 0,2% | 0,3% | 0,3% | - | - | 1,2% | - | 0,7% | 0,3% | 0,3% |
| cop/(cop+e-cop) | 0,93 | 0,96 | 0,95 | 1,00 | 1,00 | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 0,69 | 0,95 |
| cop/colesterol | 0,01 | 0,02 | 0,03 | - | - | 0,05 | 0,06 | 0,03 | 0,02 | 0,01 |
| Colestanol/colesterol | 0,37 | 0,33 | 0,63 | 0,53 | 0,08 | 0,44 | 0,88 | 0,28 | 0,48 | 0,18 |
| Cop/(colestanol+cop) | 0,04 | 0,06 | 0,05 | - | 0,01 | 0,01 | 0,06 | 0,11 | 0,03 | 0,04 |
| Coprostanona/(colestanon+coprostanona) | 0,07 | 0,15 | 0,07 | - | - | 0,13 | 0,05 | 0,22 | 0,19 | 0,15 |

Cop – coprostanol; e-cop – epicoprostanol; Corg – carbono orgânico; OLs totais – esteróis totais; < L.D abaixo do limite de detecção

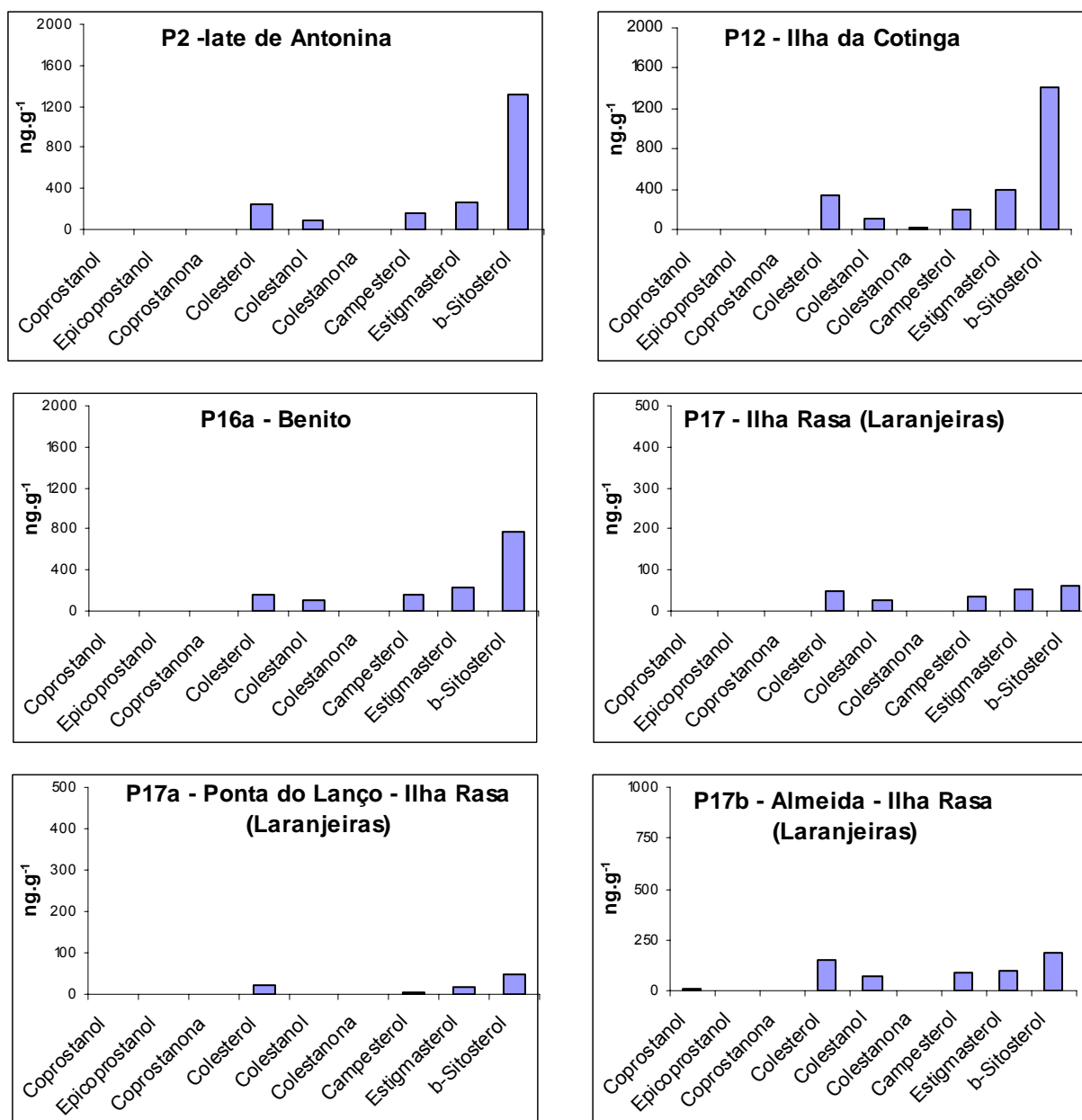


Figura 20 – Concentração de esteróides (ng.g^{-1} peso seco) nos sedimentos coletados em (Dezembro/2004 e Janeiro/2005) (Grupo P)

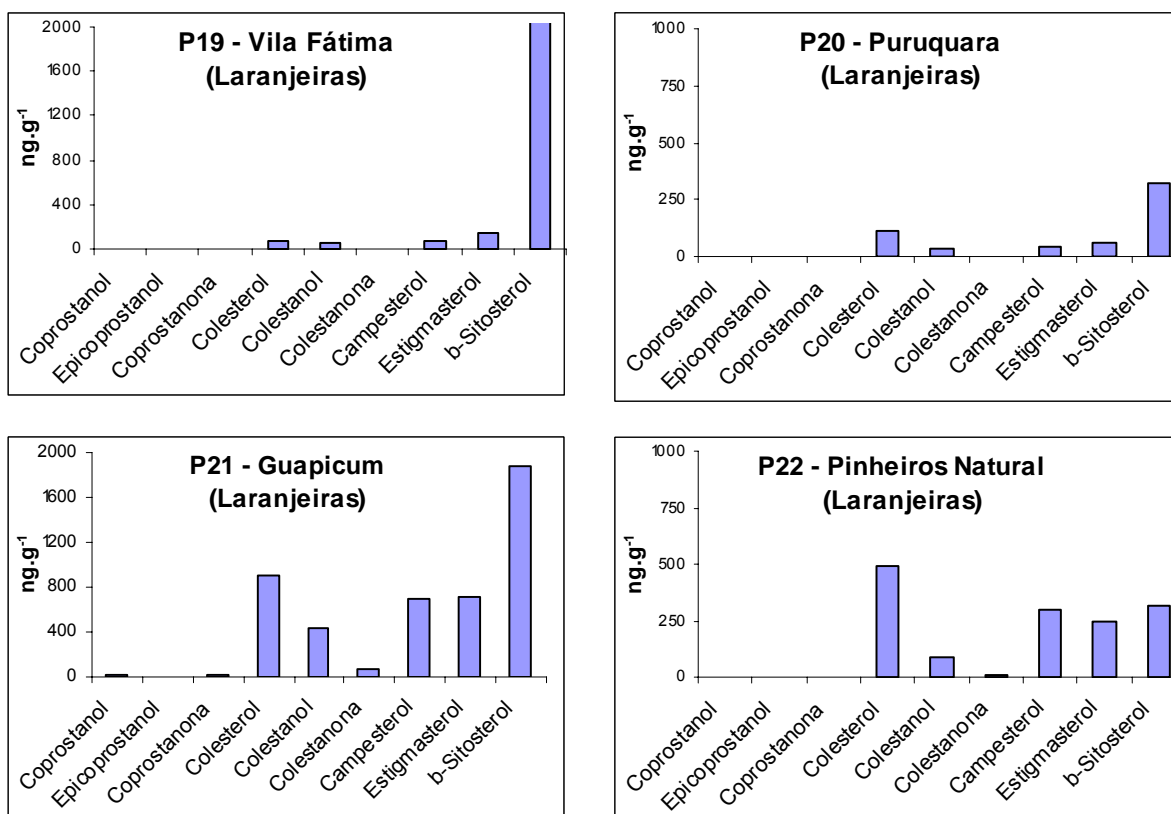


Figura 20 (Cont.) – Concentração de esteróides (ng.g⁻¹ peso seco) nos sedimentos coletados em (Dezembro/2004 e Janeiro/2005) (Grupo P)

8.3 Análise de componentes principais

As análises de componentes principais (PCA) foram realizadas agrupando-se todas as concentrações dos 9 esteróides (fatores principais) analisados nos 4 grupos de amostras de sedimento (Tabelas 10, 11, 12 e 13).

O resultado do PCA (Figura 21) demonstra que os fatores 1 e 2 explicam 81,92% da variabilidade das amostras, e usando 3 principais fatores explica-se 93,6%. O fator 1 agrupa os locais de amostragem que apresentam maiores concentrações de colesterol, colestanol, colestanona e campesterol. O fator 2 agrupa os locais de amostragem que apresentam maiores concentrações de coprostanol, epicooprostanol e coprostanona, que são característicos de fontes de contaminação urbana. O fator 3 agrupa os locais de amostragem que

apresentam concentrações mais altas de β -sitosterol, sendo este um esteroide de origem biogênica.

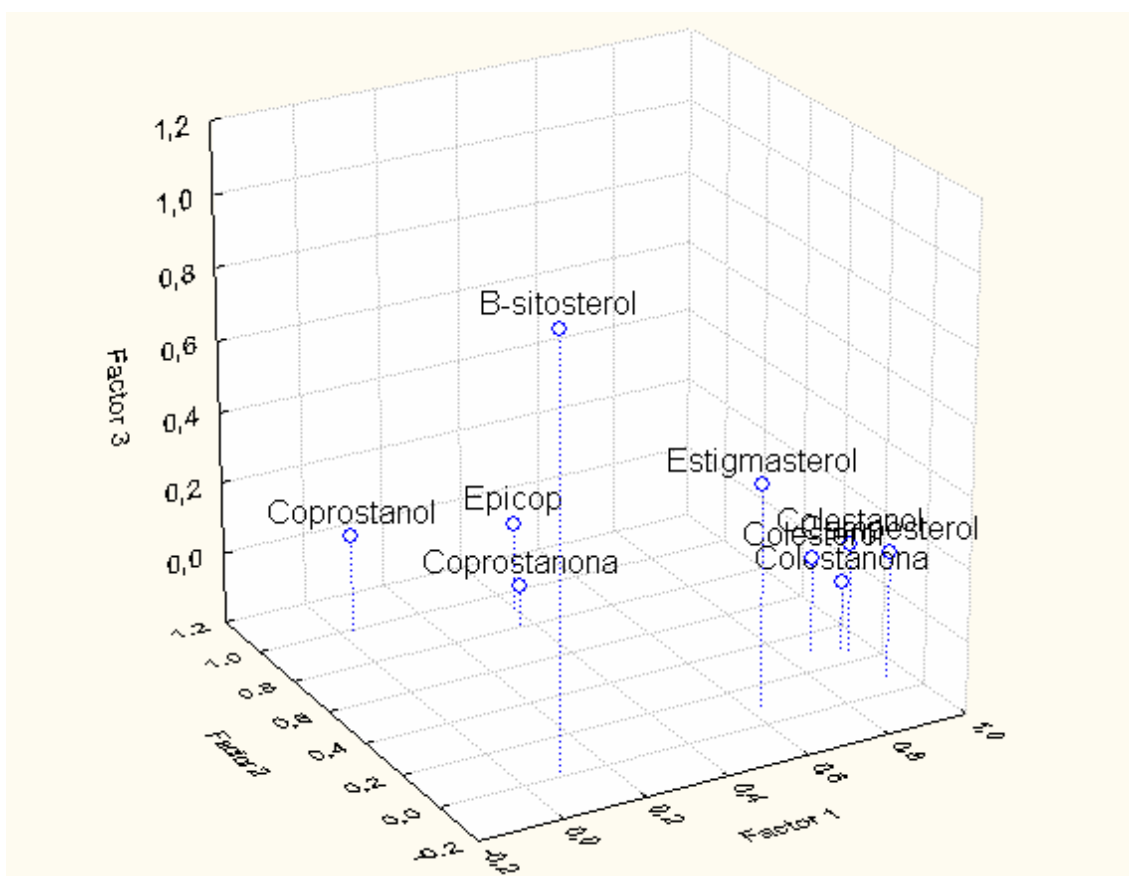


Figura 21 – Distribuição dos esteróides em relação aos 3 principais fatores do PCA.

Analisando a Figura 22, temos uma relação entre os três fatores, sendo possível observar que o fator 2 explica a contaminação urbana nos pontos S6 e T6 (Saída do Anhaia) e T10 (Saída do Itiberê). Outros pontos também apresentam concentrações elevadas de esteróides fecais e naturais, por isso ficam vários pontos aglomerados (círculo na Figura 22). Analisando a Figura 23 foi possível distinguir os pontos de coleta altamente contaminados (S6 e T6 - círculo da direita) e medianamente contaminados (S1, S9, S10, S14, T10 e T12 - círculo do centro) por esgoto urbano dos demais onde há um predomínio de matéria orgânica de origem biogênica (círculo da esquerda). Ainda é

perfeitamente visível a predominância de fontes terrígenas em alguns locais devido a alta concentração de β -sitosterol, que é representada pelo fator 3.

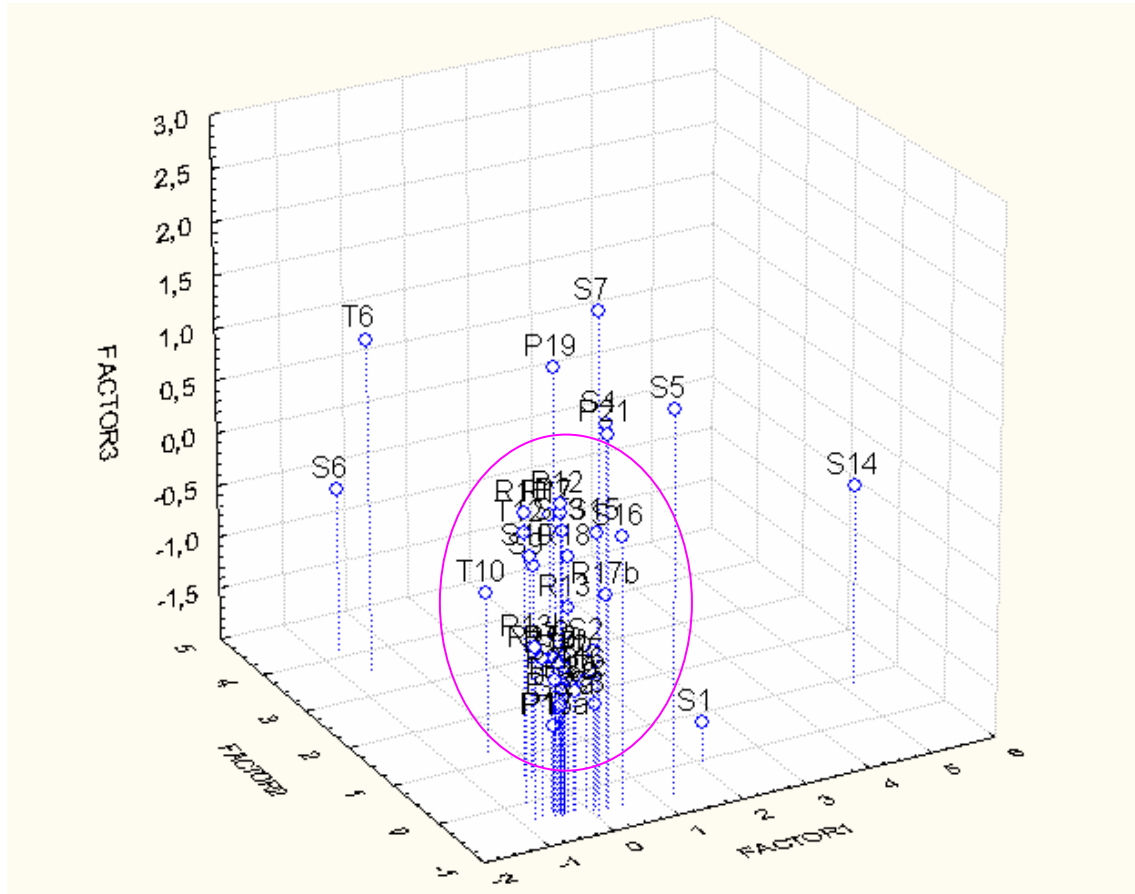


Figura 22 – Distribuição das estações em relação aos 3 principais fatores do PCA.

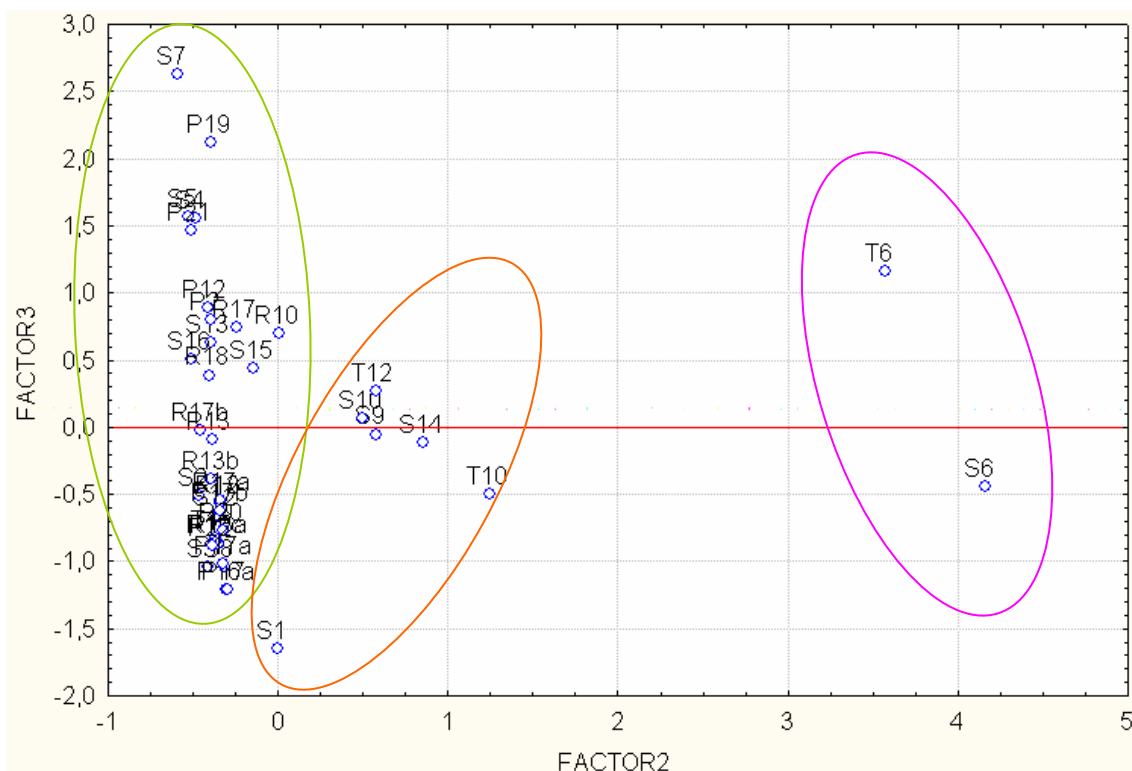


Figura 23 – Distribuição dos estações em relação aos fatores 2 e 3 do PCA.

9. Discussão

Visando facilitar o entendimento dos resultados, já que os teores de esteróides, C_{org} e N_{total} nos sedimentos foram bastante variáveis, o Complexo Estuarino de Paranaguá será analisado em dois eixos principais - leste-oeste, que compreende da Baía de Antonina até a Ilha do Mel, e; - eixo norte-sul, que compreende a Baía de Laranjeiras (Figura 24).

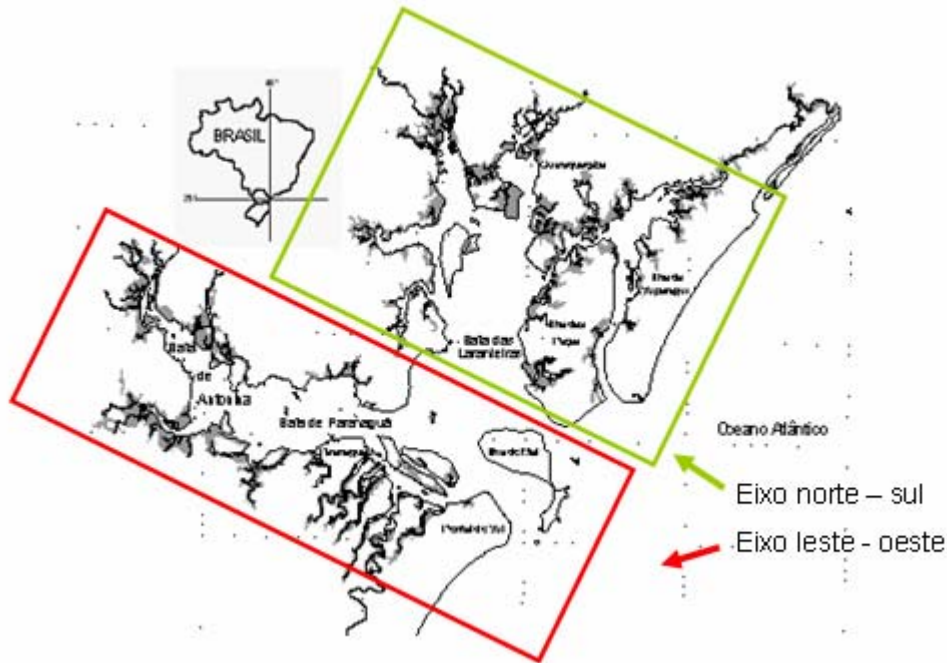


Figura 24 - Mapa do Complexo estuarino de Paranaguá mostrando os eixos norte-sul (verde) e leste-oeste (vermelho).

9.1 Avaliação da contaminação fecal no eixo leste-oeste (Baía de Paranaguá)

Os dados do teor de C_{org} permitem dizer que a concentração de compostos orgânicos será maior em sedimentos mais finos do que em sedimentos grosseiros, exceto se houver uma fonte introduzindo grandes quantidades de matéria orgânica e carbono no sedimento (Jeng & Han, 1996). Conseqüentemente, o aporte de material fecal tem significativa influência no teor de C_{org} , sendo que sedimentos sob influência de esgoto apresentam maiores teores de C_{org} . Porém, fontes naturais também podem ser responsáveis por elevados teores de carbono nos sedimentos.

Os resultados de C_{org} apresentaram teores mais altos nos seguintes pontos: S1 - acima de Antonina, S2 - late de Antonina, S4 - Ilha do Teixeira, S5 - zona de máxima turbidez - Ilha de Gererês e R13b - Ilha Rasa da Cotinga.

Visto que a entrada de matéria orgânica por esgoto doméstico origina teores maiores de C_{org} , outros pontos que sugerem aportes de matéria orgânica por esgoto doméstico por apresentar coprostanol, como os localizados na saída do Anhaia, Porto de Paranaguá, saída do Itiberê, entre outros, deveriam ter teores mais altos de C_{org} . A correlação entre o C_{org} e o coprostanol foi pouco significativa ($r^2 = 0,2$), portanto, não pode ser levada em consideração para fazer uma análise se um local esta ou não contaminado.

Uma das formas de reforçar a validade do uso de esteróides como indicador de contaminação urbana é análise conjunta com a razão carbono/nitrogênio (C/N). Organismos, fontes naturais de coprostanol liberam para o meio, pela degradação de seus tecidos, tanto carbono quanto nitrogênio, constituintes da estrutura de suas proteínas. A matéria orgânica marinha viva, essencialmente derivada do plâncton, tem razão molar de C/N entre 4 e 10, enquanto que terrestre, formada por plantas vasculares, tem a razão C/N superior a 20 (Meyers, 1994). Por outro lado, a entrada de material orgânico oriundo de esgoto doméstico fornece quantidades maiores de carbono do que as encontradas nas plantas. A razão C/N pode ser influenciada pela diagênese, pois ela pode tanto aumentar a perda preferencial do nitrogênio em relação ao carbono ou diminuir pela adsorção de amônia em argilo-minerais (Ruttemberg, 1997).

As razões C/N neste estudo variaram entre 1 e 10,7, sendo o ponto mais alto localizado na Ilha Rasa da Cotinga (R13b). Como a concentração de matéria orgânica no sedimento é decorrente da sua produção, transporte e decomposição, este resultado poderia estar associado ao aumento geral da contaminação por esgoto da ilha. Entretanto, por se tratar de uma região de

mangue com concentrações de coprostanol baixos ($1,6 \text{ ng.g}^{-1}$), não é provável que contaminação urbana seja responsável pelos altos valores na razão C/N.

As concentrações de coprostanol em esgoto *in natura* variam de 62 a $2781 \mu\text{g.L}^{-1}$, tendendo a diminuir com a distância da(s) fonte(s) (Takada & Eganhouse, 1998). As concentrações no efluente primário estão entre 29 e $750 \mu\text{g.L}^{-1}$, que é comparável ao esgoto *in natura*, sendo que após o tratamento secundário cerca de 94% do coprostanol é removido. Devido à hidrofobicidade do coprostanol, este é absorvido pelas partículas do esgoto durante os processos de tratamento. Conseqüentemente, o coprostanol é encontrado no lodo dos efluentes em concentrações elevadas, realçando o seu valor como marcador molecular de esgoto (Takada & Eganhouse, 1998).

Apesar de vários trabalhos terem determinado coprostanol em diferentes regiões (Tabela 14), não há um consenso em relação ao valor mínimo de coprostanol para que uma área seja considerada contaminada por esgotos urbanos. Gonzalez-Oreja & Saiz-Salinas (1998) sugerem que valores maiores que 500 ng.g^{-1} seriam uma indicação significativa de contaminação. Entretanto, Grimalt et al. (1990) sugerem que valores superiores a 100 ng.g^{-1} já seriam uma indicação de contaminação por esgoto urbano. Portanto, os pontos de coleta no eixo leste-oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá que apresentaram concentrações de coprostanol acima de 100 ng.g^{-1} (S1 acima de Antonina), S10 e R10 (saída do Itiberê), T12 (Ilha da Cotinga) e S15 (Prainha Ilha do Mel) indicam uma possível contaminação, devendo, entretanto, ser confirmada pela análise de outros esteróides e das relações entre eles (Takada & Eganhouse, 1998). Já os níveis de coprostanol (acima 500 ng.g^{-1}) encontrados nos pontos S6 e T6 (saída do Anhaia), S9 (Centro de Paranaguá),

S14 (Marinas Pontal do Sul) e T10 (saída do Itiberê), são um forte indício da contaminação por esgoto doméstico (Figura 25).

Tabela 14 – Dados de coprostanol em diferentes regiões do mundo.

| Local de Estudo | Coprostanol (ng.g ⁻¹) | Referência |
|---|-----------------------------------|-------------------------------|
| Baía de Todos os Santos, Brasil | 50 - 2150 | (Santos, 1997) |
| Estuário Capibaribe Recife, Brasil | 92,9 - 2824 | (Fernandes et al., 1999) |
| Ubatuba, Brasil | <10 – 510 | (Kawakami, 1999) |
| São Sebastião, Brasil | 90 - 5910 | (Kawakami, 1999) |
| Santos, Brasil | <10 – 180 | (Kawakami, 1999) |
| Baía de Guanabara, Brasil | 335 - 10000 | (Carreira, 2000) |
| Lagoa Ria Formosa, Portugal | 100 - 41800 | (Mudge & Bebianno, 1997) |
| Baía de Tóquio, Japão | 20 – 243 | (Chaloux et al., 1995) |
| Estuário Rio Morlaix, França | 70 - 30000 | (Quéméneur & Marty, 1992) |
| Veneza, Itália | 0,2 – 41 | (Sherwin et al., 1996) |
| Baía de Narragansett, EUA | 130 - 39300 | (Le Blanc et al., 1992) |
| Bacia Santa Mônica, EUA | 500 - 5100 | (Venkatesan, 1990) |
| Enseada de New York, EUA | 0,06 - 5,2 | (Hatcher & McGillivary, 1979) |
| Estuários: Mersey, Dee, Tamar, Inglaterra | 1,6 - 9,0 | (Readman, 1986) |
| Barcelona, Espanha | 1,0 – 390 | (Grimalt & Albaiges, 1990) |
| Baía de Paranaguá | 3,6 - 2222 | Presente estudo |
| Baía de Laranjeiras | 0,02 – 17,3 | Presente estudo |

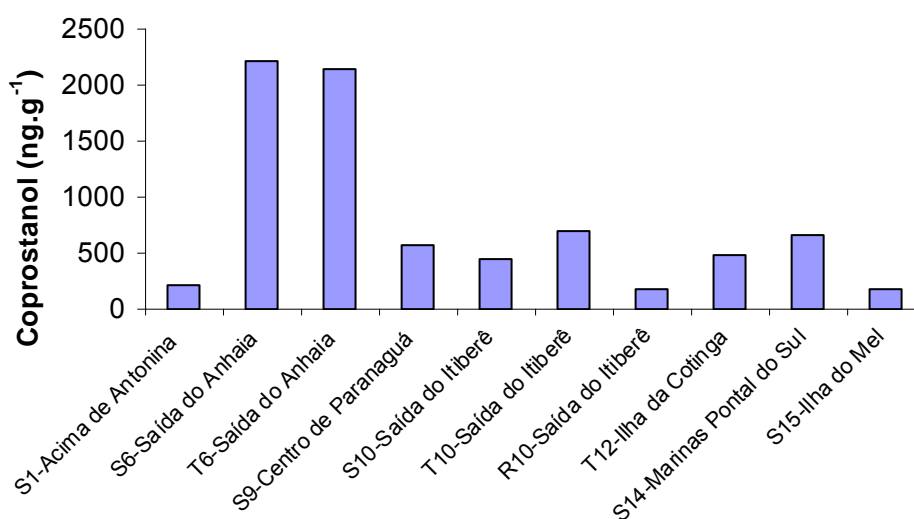


Figura 25 – Resultados de coprostanol (ng.g⁻¹) no eixo leste-oeste.

Estes resultados já eram esperados, visto que a falta de captação e tratamento adequado do esgoto doméstico é uma realidade de todo o Complexo Estuarino de Paranaguá e demais regiões pertencentes à zona costeira do Paraná (FUNPAR, 2006). O esgoto sanitário *in natura* é lançado nos rios ou em canais inapropriados (ex. rios Itiberê e Enboguazu e canal Anhaia, na Vila Guarani), no entorno das zonas urbanas (ex. Paranaguá, Antonina, Pontal do Sul) ou diretamente na baía (FUNPAR, 2006).

A presença de concentrações mais elevadas de coprostanol no ponto S1 (acima de Antonina) pode ser explicado por possíveis aportes da cidade de Antonina que acabam sendo concentrados pelo estrangulamento da baía antes do local analisado, o que acarreta num período de enchente mais intenso que o de vazante (Lana *et al.*, 2001). Dados de balneabilidade desta região confirmam uma contaminação em Antonina, nos Rios Nhundiaquara e Marumbi e no município de Morretes oriundos de esgotos domésticos da população permanente. Na Ilha do Mel, próximo ao trapiche da Praia de Encantadas, as condições de balneabilidade também foram ruins, confirmando os valores de coprostanol encontrados. Os riachos trazem para a praia os esgotos domésticos de uma grande quantidade de residências, ocupada tanto por moradores da ilha como de visitantes (Instituto Ambiental do Paraná, 2006).

Apesar de ser considerado como um marcador molecular específico e apresentar boa resistência aos processos iniciais de diagênese, especialmente em ambientes anóxicos, alguns autores como Grimalt *et al.* (1990) e McCaffrey (1990) apontam limitações no uso do coprostanol, devido a dois principais fatores: (i) falta de um critério quantitativo que associe determinado nível de coprostanol à presença de contaminação fecal; (ii) possível produção "*in situ*"

de coprostanol em sedimentos anóxicos, o que representaria uma fonte independente do coprostanol. Portanto, a análise do coprostanol isoladamente não é o suficiente para caracterizar se um ambiente está contaminado por esgoto ou não, sendo necessário levar em consideração as concentrações dos outros esteróides, já citados neste estudo, e também as principais relações entre eles.

As concentrações de epicoprostanol encontradas foram relativamente baixas em relação aos outros esteróis fecais. O epicoprostanol está presente em pequenas quantidades nas fezes humanas, mas também pode ser formado nos sedimentos pela ação bacteriana sobre o coprostanol, pois é um epímero mais estável. Já McCalley et al. (1981) citam o epicoprostanol como sendo resultante em processos de digestão aeróbica de lodos de estação de tratamento de esgotos. Neste caso, os baixos valores de epicoprostanol encontrados, principalmente nas regiões que apresentam sinais de contaminação urbana (valores $> 15 \text{ ng.g}^{-1}$) são, provavelmente, resultado da falta de tratamento de esgotos lançados no Complexo Estuarino de Paranaguá (somente 15% dos esgotos são tratados). Baixas concentrações de epicoprostanol associadas a concentrações representativas de coprostanol, que podem ser característicos de um ambiente com contaminação fecal (Figura 26), foram encontradas em alguns locais do eixo leste-oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá, sendo estes: S1 – acima de Antonina, S6 – saída do Anhaia, S10 – saída do Itiberê, T10 – saída do Itiberê, S14 – Marinas Pontal do Sul, S15 – Prainha Ilha do Mel, T6 – saída do Anhaia e T12 – Ilha do Cotinga entre Itiberê e Ilha dos Papagaios.

Outra forma de relacionar as concentrações de epicoprostanol e coprostanol é utilizando a razão entre epicoprostanol e coprostanol, que permite estimar o grau de tratamento do efluente descartado em uma área. Valores desta razão inferiores a 0,20 indicam sedimentos contaminados por efluentes não tratados enquanto valores superiores a 0,8 sugerem sedimentos que recebem descarga de esgoto com algum tratamento. Sendo assim é possível observar a falta de tratamento de efluentes em todos os pontos coletados no eixo leste-oeste.

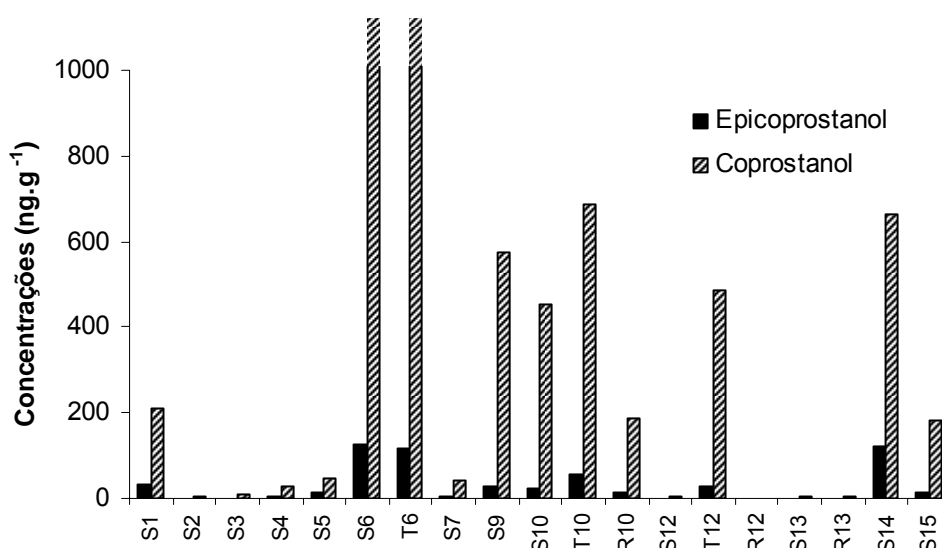


Figura 26 – Comparação entre as concentrações (ng.g⁻¹) de epicoprostanol e coprostaol no eixo leste-oeste.

Outras fontes de esteróides no ambiente marinho são as fezes de mamíferos marinhos e as transformações microbianas *in situ* do colesterol e, em ambos os casos, ocorrem à predominância do epicoprostanol, que é termodinamicamente mais estável do que o coprostanol (Kelly, 1995). Nestes casos seria possível diferenciar os esteróis fecais provenientes dos esgotos dessas outras fontes a partir dos níveis relativos desses dois compostos.

A coprostanona também é considerada um esteróide fecal, mas é produzida em menor quantidade que o coprostanol e o epicoprostanol na biotransformação do colesterol, sendo um produto intermediário da conversão do colesterol em coprostanol. Os valores encontrados de coprostanona neste estudo foram bastante variados, sendo a maior concentração encontrada no ponto S6 (saída do Anhaia) com $918,81 \text{ ng.g}^{-1}$, local este onde os níveis de coprostanol também mostraram-se bastante elevados.

O colesterol é um esteroide bastante encontrado em sedimentos e material particulado em suspensão de ambientes aquáticos (Volkman, 1986). Os resultados encontrados para sedimentos do eixo leste-oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá apresentaram uma ampla gama de concentração, chegando a representar até 30% dos esteróides totais. Este percentual é alto quando comparado com trabalhos realizados em outros estuários brasileiros contaminados por esgoto urbano, como o estudo realizado no rio Capiberibe (Recife), que relata que o aumento na concentração do colesterol não é influenciado pela contaminação por esgoto urbano (Fernandes et al., 1999).

O colestano pode ser produzido por organismos fitoplanctônicos e também como um intermediário nas transformações do colesterol. O colestano foi detectado na maioria das amostras deste estudo, sendo o ponto com nível mais alto o localizado em S14 (Marinas Pontal do Sul), com $2784,0 \text{ ng.g}^{-1}$, representando 19% em relação aos esteróis totais.

A razão colestano/colesterol demonstra se ocorreu ou não a redução (hidrogenação) microbiana de esteróis a estanois e transformações diagenéticas, que podem ocorrer tanto na coluna d'água quanto no sedimento. Altos valores para esta razão indicam que estes processos ocorreram, uma vez

que o colesterol pode ser transformado em colestanol, que acumula preferencialmente em sedimentos redutores por ser termodinamicamente mais estável (Jeng & Han, 1996).

Lajat (1990) e Fernandes et al. (1999) encontram valores da razão colestanol/colesterol variando entre 0,1 e 0,5 e 0,28 e 0,82, respectivamente, sendo um indício de que não ocorreu as transformações no sedimento de colesterol em colestanol. Já o estudo de Carreira (2000) apresentou valores da razão colestanol/colesterol bem mais altos (média de 1,73) como resultado de possíveis aportes biogênicos diretos de colestanol ou da redução microbiana de esteróis em estanois nos sedimentos. Sendo assim, os baixos valores da razão colestanol/colesterol (0,1 – 0,8) para as amostras dos grupos do eixo leste-oeste indicam que os aportes biogênicos de colestanol ou, possivelmente, as transformações no sedimento a partir de colesterol foram pouco significativas.

Considerando-se que o coprostanol pode ter outra origem que não pela redução bacteriana do colesterol no intestino dos organismos de sangue quente, McCalley et al. (1981) e Grimalt et al. (1990) propõem a razão coprostanol/colestanol+coprostanol como critério qualitativo de contaminação fecal. Razões acima de 0,7 foram consideradas típicas de sedimentos altamente contaminados por esgoto, enquanto que a ausência desse tipo de contaminação seria caracterizada por índices abaixo de 0,3 (Tabela 15). No entanto, mesmo estes índices podem acarretar incertezas para valores entre 0,3 e 0,7, pois o colestanol possui um aporte natural através das algas e zooplanctôn (Volkman, 1986).

Já a relação coprostanona/colestanona+coprostanona, onde a coprostanona tem origem fecal e a colestanona origem diagenética, não seria afetada por aportes biogênicos para o sedimento (Grimalt et al. 1990). Portanto serve como um índice complementar na avaliação qualitativa da contaminação fecal, principalmente quando a relação coprostanol/colestanol+coprostanol der valores intermediários, ou seja, entre 0,3 e 0,7.

Tabela 15 – Relações para avaliação da contaminação por esgoto urbano

| Relação | Valores | Fonte |
|---|--|--------------------------------|
| Coprostanol/ colestanol+coprostanol | 0,1 a 0,3 - não contaminada 0,7 a 1,0 - contaminada | Grimalt et al. (1990) |
| Coprostanona/ colestanona+coprostanona | 0,1 a 0,4 - não contaminada 0,5 a 1,0 - contaminada | Grimalt et al. (1990) |
| % Cop+e-cop/OLs totais | > 25% - contaminada | (Sherwin <i>et al.</i> , 1996) |
| Cop/colesterol | > 0,2 – área contaminada | (Mudge & Bebianno, 1997) |

Cop – coprostanol; OLs totais – esteróis totais

Uma análise das razões sugeridas por Grimalt et al. (1990) confirma que as estações S6 e T6 (saída do Anhaia), S9 (Centro de Paranaguá), S10, T10 e R10 (saída do Itiberê), e T12 (Ilha da Cotinga entre Itiberê e Ilha dos Papagaios) estariam realmente contaminadas por efluentes domésticos (Tabelas 10, 11, 12 e 13) (Figura 27).

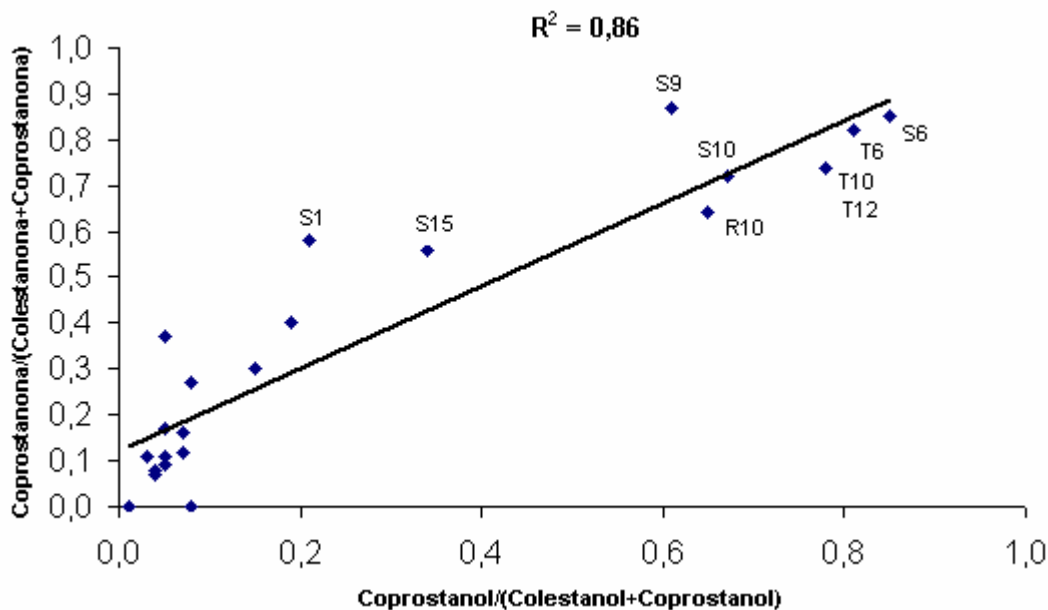


Figura 27 – Comparação entre as relações propostas por Grimalt et al. (1990) para confirmar a contaminação nestes locais.

Nos casos em que as relações coprostanol/(colestanol+coprostanol) e coprostanona/(colestanona+coprostanona) mostraram-se entre 0,3 e 0,6, principalmente associados a teores de coprostanol maiores que 100 ng g^{-1} (S1 – acima de Antonina e S15 – Prainha Ilha do Mel), é possível inferir que houve algum aporte de efluentes domésticos, mesclado a aportes biogênicos de esteróides (Grimalt & Albaiges, 1990)

Os resultados para a razão % coprostanol + epicoprostanol/OLs totais, que mostram a percentagem de esteróis fecais em relação aos esteróis totais, variaram bastante em todos os pontos de coleta deste estudo (0,1% a 44,2%). Os locais até então associados a possíveis aportes de efluentes urbanos apresentaram razões superiores a 10%, enquanto que os locais possivelmente livres de contaminação apresentaram razões bastante inferiores a estas. Os mais altos valores, encontrados nas estações S6 e T6 (saída do Anhaia) e T10 (saída do Itiberê), foram semelhantes aos encontrados nas regiões próximas a

Veneza (Itália) onde está relação variou entre 32 e 44% em amostras coletadas nos canais de descarga de esgotos. Já em regiões mais afastadas destes canais, os valores encontrados variaram entre 5 e 10% (Sherwin et al., (1996).

Venkatesan & Kaplan (1990) propuseram que uma relação %coprostanol + epicoprostanol / OLS totais entre 50 e 80% indica sedimento severamente contaminados por esgoto. Amostras coletadas na Bacia de Santa Mônica, Califórnia (EUA) mostraram um crescente declínio no valor desta relação (55 a 6%) com o aumento da distância da saída de esgotos, podendo ser a distância da fonte direta de contaminação uma explicação para os índices intermediários e variados encontrados na região de coleta.

A relação %coprostanol/esteróides totais teve uma variabilidade bastante acentuada, sendo mais elevada (>5%) para os pontos S6 e T6 (saída do Anhaia– 34,8% e 29,5%), S9 (centro de Paranaguá – 18,9%), S10, T10 e R10 (saída do Itiberê – 15,0%, 22,6% e 6,6%) e T12 (Ilha da Cotinga – 14,4%). Nos outros pontos, o coprostanol representou proporções menores que variaram entre 4.5% e 0,1%.

Os valores encontrado para a razão coprostanol / (coprostanol + epicoprostanol) foram todos superiores a 0,7, o que, segundo McCalley et al. (1981), indica que os processos diagenéticos de formação do epicoprostanol são pouco representativos. Porém, a razão entre as concentrações de coprostanol e epicoprostanol (cop/e-cop) demonstrou que alguns locais apresentam uma relativa formação ou aporte de epicoprostanol.

Venkatesan & Santiago (1989) propuseram a razão entre as concentrações de coprostanol e epicoprostanol (cop/e-cop), como forma de diferenciar os pontos estudados em relação a contribuição de esteróis fecais de

origem humana das fontes naturais. Porém, esta razão não se mostrou eficiente na diferenciação destas duas fontes de esteróides para os sedimentos da Baía de Paranaguá.

Mudge & Norris (1997) utilizaram o colesterol marinho para determinar o Índice de Fonte de Esterol (Sterol Source Index, SSI) e avaliaram a contaminação por esgoto com a razão da concentração do coprostanol pelo colesterol. Usando a relação indicada por Mudge & Norris (1997), onde o resultado da razão entre coprostanol e colesterol > 1 caracteriza que o local está contaminado (Tabela 15), foi possível verificar novamente a presença de contaminação por esgotos nos pontos S6 e T6 (saída do Anhaia) e T10 (saída do Itiberê).

Esta relação pode estar subestimada pela produção de colesterol por organismos zooplanctônicos e pelo colesterol presente no próprio esgoto. Santos (1997) também observou que a relação cop/colesterol não indicou com precisão a contaminação, sendo necessário recorrer a outras relações para comprovar ou não o resultado encontrado.

Um resumo das principais razões entre esteróides em sedimentos coletados no eixo leste-oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá indica que os pontos S6 e T6 (saída do Anhaia), S9 (Centro de Paranaguá), R10, S10 e T10 (saída do Itiberê) e S12 (Ilha da Cotinga) podem ser, sem sombra de dúvida, recebe a influência de efluentes domésticos (Tabela 16).

Tabela 16 – Principais relações no eixo leste-oeste do Complexo da Baía de Paranaguá

| Locais | Antonina | | | | Ilha do Teixeira | Pier da BR | Saída do Anhaia | | Porto de Paranaguá | Centro de Paranaguá | Saída do Itiberê | | |
|--|----------|----|----|----|------------------|------------|-----------------|----|--------------------|---------------------|------------------|-----|-----|
| | S1 | S2 | S3 | P2 | S4 | S7 | S6 | T6 | S8 | S9 | R10 | S10 | T10 |
| Relação | | | | | | | | | | | | | |
| Cop/colestanol+cop | NC | NC | NC | NC | NC | NC | C | C | NC | C | C | C | C |
| Coprostanona/Colestanona +Coprostanona | C | NC | NC | NC | NC | NC | C | C | NC | C | C | C | C |
| e-cop/cop | C | C | C | NC | C | C | C | C | NC | C | C | C | C |
| %Cop+e-cop/OLs totais | NC | NC | NC | NC | NC | NC | C | C | NC | NC | C | NC | C |
| Cop/Colesterol | NC | NC | NC | NC | NC | NC | C | C | NC | C | C | C | C |

Tabela 16 (cont.) - Principais relações no eixo leste-oeste do Complexo da Baía de Paranaguá

| Locais | Ilha de Gererês | Ilha da Cotinga | | | | Ilha Rasa da Cotinga | | | | Marinas Pontal do Sul | Ilha do Mel |
|--|-----------------|-----------------|-----|-----|-----|----------------------|-----|------|------|-----------------------|-------------|
| | S5 | S12 | T12 | R12 | P12 | S13 | R13 | R13a | R13b | S14 | S15 |
| Relação | | | | | | | | | | | |
| Cop/colestanol+cop | NC | C | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | C |
| Coprostanona/Colestanona +Coprostanona | NC | C | C | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| e-cop/cop | NC | NC | C | NC | NC | NC | NC | NC | NC | C | C |
| %Cop+e-cop/OLs totais | NC | C | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| Cop/Colesterol | NC | NC | C | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC |

C – contaminado NC – não contaminado OLs totais – esteróis totais

9.2 Avaliação da contaminação fecal no eixo norte-sul (Baia de Laranjeiras)

Os esteróides fecais foram encontrados em concentrações baixas, variando entre >L.D a $17,3 \text{ ng.g}^{-1}$ para o coprostanol. As estações R17a (Ilha Rasa - Laranjeiras - $0,07 \text{ ng.g}^{-1}$) e P17a (Ponta do Lanço - Ilha Rasa - Laranjeiras - $0,02 \text{ ng.g}^{-1}$) apresentaram os teores mais baixos, sendo o mais alto na S17 (Ilha Rasa - Laranjeiras - $17,3 \text{ ng.g}^{-1}$). Estes baixos valores de coprostanol eram esperados já que a região da Baia de Laranjeiras não apresenta grandes concentrações urbanas, somente algumas vilas de pescadores distribuídas de forma esparsa. Como nenhum dos sedimentos foi coletado junto a pontos de drenagem superficial destas vilas, não eram esperados indícios de contaminação urbana nos resultados de esteróides.

A razão colestanol/colesterol indica que a maioria dos valores encontra-se abaixo de 0,5. Os valores altos encontrados na estação P19 (Vila Fátima - Laranjeiras - 0,9) e T16 (saída do Benito - Laranjeiras - 0,75) indicam a redução (hidrogenação) microbiana de esteróis a estanois e transformações diagenéticas, que podem ocorrer tanto na coluna d'água quanto no sedimento.

Uma análise das razões coprostanol/colestanol+coprostanona e coprostanona/colestanona+coprostanona demonstrou que os esteróides encontrados na Baia de Laranjeiras não têm uma origem fecal, já que a grande maioria dos valores foram inferiores a 0,3.

A concentração relativamente baixa de coprostanol foi confirmada pela relação %coprostanol/esteróides totais, onde a quase totalidade das estações apresentou valores menores que 1%.

Apesar das baixas concentrações de coprostanol nestes sedimentos, o epicoprostanol apresenta uma concentração relativamente baixa (razão coprostanol/epicoprostanol), exceto nas estações localizadas em Guapicum – Laranjeiras (P21), Ilha Rasa Laranjeiras (R17b) e saída do Benito – Laranjeiras (T16) que apresentaram indícios de formação diagenética de epicoprostanol. Em geral os valores encontrados para a razão coprostanol / (coprostanol + epicoprostanol) foram elevados, indicando que os processos diagenéticos de formação do epicoprostanol são pouco representativos (McCalley et al. 1981).

A razão coprostanol/colesterol foi sempre bastante inferior a 1% para todas as estações do eixo norte-sul indicando que esta região está livre de contaminação por efluentes domésticos (Tabela 15).

Um resumo das principais razões entre esteróides em sedimentos coletados no eixo norte-sul do Complexo Estuarino de Paranaguá indica que a totalidade dos sedimentos coletados podem ser considerados não contaminados por efluentes domésticos (Tabela 17).

Tabela 17 – Principais relações no eixo norte-sul do Complexo da Baía de Paranaguá

| Locais | Ilha Rasa (Laranjeiras) | | | | | | | | |
|---|-------------------------|-----|------|------|------|-----|------|------|------|
| | S17 | R17 | R17a | R17b | R17c | P17 | P17a | P17b | P16a |
| Relação | | | | | | | | | |
| Cop/colestanol+cop | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| Coprostanona/Colestanona+ coprostanona | NC | C | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| e-cop/cop | C | NC | NC | C | NC | NC | NC | NC | NC |
| %Cop+e-cop/OLs totais | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| Cop/Colesterol | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC | NC |

Tabela 17(Cont.) – Principais relações no eixo norte-sul do Complexo da Baía de Paranaguá

| Locais | Vila Fátima | Puruquara | Guapicum | Pinheiros Natural | Itaqui | Saída do Benito |
|---|-------------|-----------|----------|-------------------|--------|-----------------|
| | P19 | P20 | P21 | P22 | R18 | T16 |
| Relação | | | | | | |
| Cop/colestanol+cop | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| Coprostanona/Colestanona+ coprostanona | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| e-cop/cop | NC | NC | C | NC | NC | NC |
| %Cop+e-cop/OLs totais | NC | NC | NC | NC | NC | NC |
| Cop/Colesterol | NC | NC | NC | NC | NC | NC |

C – contaminado NC – não contaminado Ols totais – esteróis totais

9.3 Avaliação origem da matéria orgânica biogênica no eixo leste-oeste (Baia de Paranaguá)

Como as plantas superiores contêm grandes quantidades de campesterol, estigmasterol e β -sitosterol, a presença destes esteróis nos sedimentos de ambientes aquáticos é normalmente associada ao aporte de matéria orgânica de origem continental (Huang & Meinschein, 1979). Estes esteróis foram identificados em todas as amostras coletadas para este estudo, sendo o β -sitosterol o esterol mais abundante entre os marcadores terrestres, chegando a representar 58% dos esteróides totais. As concentrações mais altas de β -sitosterol foram encontradas nas estações S4 (Ilha do Teixeira), S5 (Zona de máxima turbidez - Ilha de Gererês), S7 (Pier da Petrobrás), S13 (Ilha Rasa da Cotinga), S14 (Marinas Pontal do Sul) e T6 (Saída do Anhaia), locais situados próximos aos rios. Todos estes pontos apresentam teores de C_{org} entre 1,1% e 3,1% o que reflete uma granulometria menor do local.

Nos pontos S1 (acima de Antonina), S2 (late de Antonina), S14 (Marinas Pontal do Sul) e S15 (Prainha Ilha do Mel), o campesterol, estigmasterol e β -sitosterol foram mais representativos que os esteróis fecais (Tabelas 10, 11, 12 e 13), indicando o predomínio de fontes terrestres na composição da matéria orgânica sedimentar (Grimalt & Albaiges, 1990).

Há algumas restrições sobre a especificidade do campesterol, estigmasterol e β -sitosterol em indicar a presença de plantas superiores, pois algumas algas podem produzir estes esteróis. Para caracterizar melhor a fonte desses esteróis, Volkman (1986) propôs que seja avaliada a relação entre o campesterol: estigmasterol: β -sitosterol. Como as algas contêm quantidades maiores de campesterol e estigmasterol em relação a β -sitosterol, as razões do

tipo 1:1,4:4,0 ou 1:1,6:6,6, indicam o predomínio de fontes terrestres na composição da matéria orgânica sedimentar. Analisando os resultados do Complexo Estuarino de Paranaguá no eixo leste-oeste, encontra-se um predomínio de fontes terrígenas na maioria dos pontos coletados, (Figura 28), mas em outros foi possível observar uma influência de fontes marinhas.

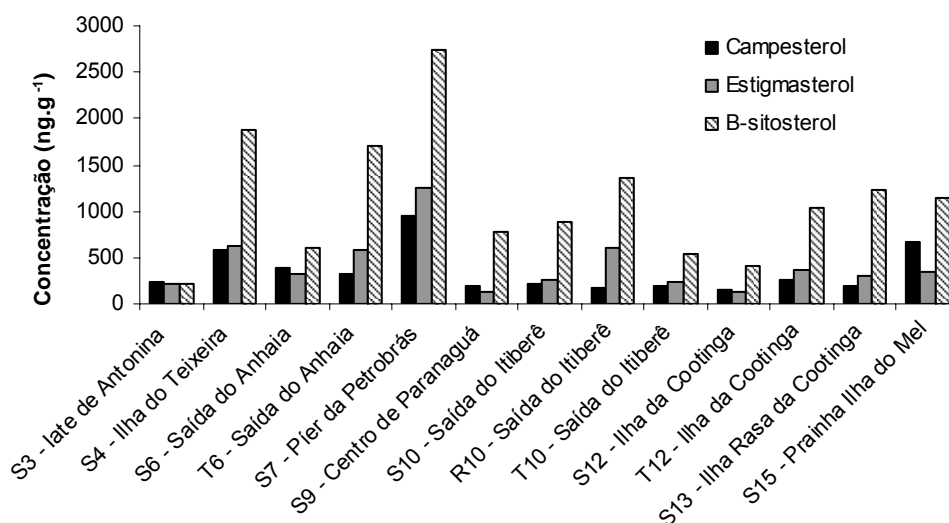


Figura 28 – Concentração (ng.g⁻¹) de esteróides de fontes naturais no eixo Leste-Oeste (Baía de Paranaguá)

9.4 Avaliação origem da matéria orgânica biogênica no eixo norte-sul (Baía de Laranjeiras)

Em todos os pontos coletados neste eixo as concentrações de campesterol, estigmasterol e β -sitosterol foram mais elevadas que os demais esteróides. Fazendo a análise das relações entre o campesterol, estigmasterol e β -sitosterol propostas por Volkman (1986), foi possível observar uma influência de fontes terrestres maior em alguns pontos e menor em outros. Sendo na Vila Fátima (P19) o local onde a concentração de β -sitosterol foi mais alta, maior que 2.000 ng.g⁻¹ (Figura 29).

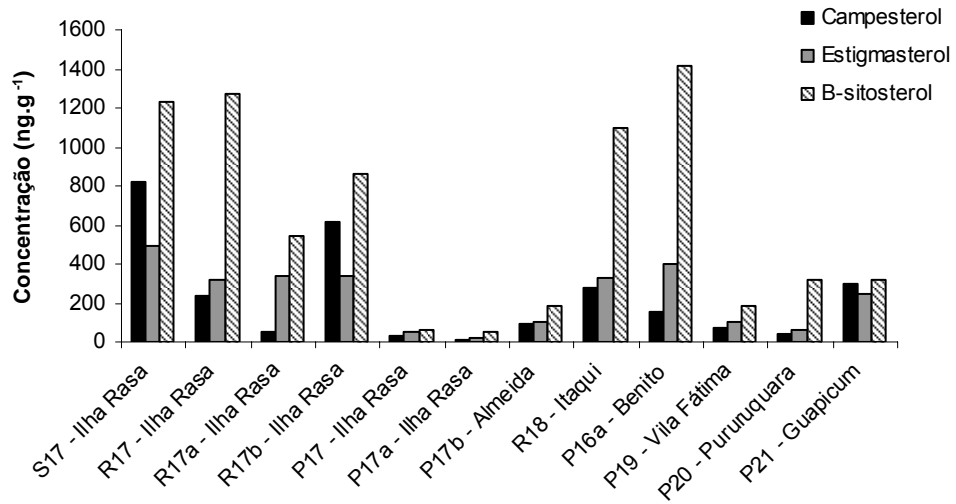


Figura 29 - Concentração (ng.g⁻¹) de esteróides de fontes naturais no eixo Norte-Sul (Baía de Laranjeiras)

10. Conclusão

As características do Complexo da Baía de Paranaguá são bastante variáveis devido as diferentes fontes naturais e antropogênicas. As fontes naturais são relacionadas à própria origem da baía, como à circulação local das águas. O crescente movimento comercial e industrial por parte dos Portos de Paranaguá e Antonina, e também pela crescente urbanização do Complexo de Paranaguá, principalmente nas praias, são os fatores que mais influenciam no aumento de contaminação destes locais.

A partir dos dados de esteróides, e das relações envolvendo estes, 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 do Anhaia e Itiberê. Estes dados refletem o lançamento de efluentes domésticos *in natura* nos rios Nhundiaquara, Itiberê e Anhaia, e entorno dos principais centros urbanos.

Os esteróis de origem natural foram predominantes nos demais locais do eixo leste-oeste. A presença em concentrações elevadas de β -sitosterol, estigmasterol e campesterol caracterizam o predomínio de fontes biogênicas na composição da matéria orgânica sedimentar. Pelas altas concentrações de colesterol foi possível observar a presença de fontes biogênicas marinhas (fitoplâncton e zooplâncton) de matéria orgânica em sedimentos do eixo leste-oeste (Antonina, Píer da Petrobrás, Marinas Pontal do Sul e Porto de Paranaguá) e do eixo norte-sul (Ilha de Laranjeiras, Benito e Pinheiro Natural).

Os sedimentos analisados no eixo norte-sul demonstraram a ausência completa de fontes significativas de contaminação fecal, tendo uma assinatura

típica de sedimentos com fonte biogênica de esteróis, principalmente terrígena nas estações S17 – Ilha Rasa (Laranjeiras), R17 – Ilha Rasa (Laranjeiras), R18 – Itaqui (Laranjeiras), P19 – Vila Fátima (Laranjeiras) e P21 - Guapicum (Laranjeiras) e marinha nas estações T16 – Saída do Benito (Laranjeiras) e P22 – Pinheiros Natural (Laranjeiras).

11. Bibliografia

- Baird, C. (2002). Química Ambiental. In: Bookman (eds.), Porto Alegre. p. -622.
- Bartlett, P.D. (1987). Degradation of coprostanol in an experimental systems. *Marine Pollution Bulletin* **18**, 27-29.
- Bouloubassi, I., Meyers, P.A. & Rullkötter, J. (1999). Origin and transformation of organic matter in Pliocene-Pleistocene Mediterranean sapropels: organic geochemical evidence reviewed. *Marine Geology* **153**, 177-197.
- 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.
- Camargo, R. (1998). Estudo numérico das circulações atmosférica e oceânica na região da Baía de Paranaguá.
- Carreira, R.S. (2000). Investigação sobre o acréscimo da estocagem de carbono em ambientes fertilizados pela ação antropogênica: a Baía de Guanabara como modelo. Universidade Católica do Rio de Janeiro, 200 p.
- CETESB (1996). Relatório de Balneabilidade das praias paulistas. www.cetesb.org.
- Chaloux, N., Takada, H. & Bayona, J.M. (1995). Molecular markers in Tokyo Bay sediments: Sources and distribution. *Marine Environmental Research* **40**, 77-92.
- Fattore, E., Benfenati, E., Marelli, R., Cools, E. & Fanelli, R. (1996). Sterols in sediment samples from Venice Lagoon, Italy. *Chemistry*. **33**, 2383-2393.
- Fernandes, M.B., Elias, V.O., Cardoso, J.N. & Carvalho, M.S. (1999). Sources and fate of n-alkanols and sterols in sediments of the Amazon shelf. *Organic Geochemistry* **30**, 1075-1087.

- FUNPAR. Fundação da Universidade do Paraná. 2006.
- Gagosian, R., Lee, C. & Meinzer, F. (1979). Process controlling the stanol/stenol ratio in Black Sea seawater and sediment. *Nature* **280**, 574-576.
- Gonzales-Oreja, J.A. & Saiz-Salinas, J.I. (1998). Short-term spatio-temporal changes in urban pollution by means of fecal sterols analysis. *Marine Pollution Bulletin* **36**, 868-875.
- Green, G. & Nichols, P.D. (1995). Hydrocarbons and sterols in marine sediments and soils at Davis Station, Antarctica: a survey for human-derived contaminants. *Antarctic Science* **7**, 137-144.
- Grimalt, J.O. & Albaiges, J. (1990). Characterization of the depositional environments of the Ebro Delta (Western Mediterranean) by the study of sedimentary lipid markers. *Marine Geology* **95**, 207-224.
- Grimalt, J.O. & Fernandez, P. (1990). Assessment of Fecal Sterol and Ketones as Indicators of Urban Sewage Inputs to Coastal Waters. *Environmental Science and Technology* **24**, 357-363.
- Hatcher, P.G. & McGillivray, P.A. (1979). Sewage contamination in the New York Bight. Coprostanol as an Indicator. *Environmental Science and Technology* **13**, 1225-1229.
- Huang, W.Y. & Meinschein, W.G. (1979). Sterols as ecological indicators. *Geochim. Cosmochim. Acta* **43**, 739-745.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. www.ibge.org. 2002.
- Instituto Ambiental do Paraná (2006). Monitoramento da Balneabilidade das Águas do Litoral do Estado do Paraná.
- Jardim, W.F. (1992). A contaminação dos recursos hídricos por esgoto doméstico e industrial. *Química Nova* **15**, 144-146.

- Jeng, W.L. & Han, B.C. (1996). Coprostanol in a Sediment Core from the Anoxic Tan-Shui Estuary, Taiwan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **42**, 727-735.
- Kawakami, S.K. (1999). Coprostanol como um indicador químico de contaminação por esgoto urbano em águas regiões de São Paulo. Universidade de São Paulo, 71 p.
- Kelly, A.G. (1995). Accumulation and persistence of chlorobiphenyls, organochlorine pesticides and fecal sterols at the Garroch head sewage sludge disposal site, Firth of Clyde. *Environmental Pollution* **88**, 207-217.
- Kolm, H.E., Mazzuco, R., Souza, P.S.A., Schoenenberger, M.F. & 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.
- Lajat, M., Saliot, A. & Schimmelmann, A. (1990). Free and bound lipids in recent (1935-1987) sediments from Santa Barbara Basin. *Organic Geochemistry* **16**, 793-803.
- Lana, P.C. (1986). Macrofauna benthica de fundos sublitorais não consolidados da Baía de Paranaguá (Paraná) Nerítica, Pontal do Sul. *Química Nova* **1**, 79-89.
- Lana, P.C., Marone, E., Lopes, R.M. & Machado, E.C. (2001). The subtropical estuarine complex Paranaguá Bay, Brazil. Springer-Verlog Berlin Heidelberg. *Ecological Studies* **144**, 131-145.
- Le Blanc, I.A., Latimer, J.S., Ellis, J.T. & Quinn, J.G. (1992). The geochemistry of coprostanol in waters and surface sediments from Narragansett Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **34**, 439-458.

- Mackenzie, J.A. (1982). Isotopes and productivity in the lacustrine and marine environment. In: New York. pp. 99-118.
- Martins, C.C. (2001). Avaliação da introdução de Esteróis Fecais e Hidrocarbonetos Geoquímicos em Sedimentos da Baía do Almirado, Península Antártica. Universidade de São Paulo, 130 p.
- Martins, M.T. & Sanche, P.S. Estudos da correlação entre organismos indicadores de poluição fecal de patogênicos. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária. Rio de Janeiro. 1975.
- McCaffrey, M.A. (1990). Sediment lipids as indicators of depositional conditions in the coastal Peruvian upwelling regime.
- McCalley, D.V., Cooke, M. & Nickless, G. (1981). Effect of sewage treatment on fecal sterols. *Water Research* **1**, 1019-1025.
- Meyers, P.A. (1994). Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chemistry Geology* **114**, 289-302.
- Mudge, S.M. & Norris, C.E. (1997). Lipid biomarkers in the Conwy Estuary (North Wales, U.K.): a comparison between fatty alcohols and sterols. *Marine Chemistry* **57**, 84-61.
- Mudge, S.M. & Bebianno, M.J. (1997). Sewage contamination following an accidental spillage in the Ria Formosa, Portugal. *Marine Pollution Bulletin* **34**, 163-170.
- Nimad - Nucleo Interdisciplinar de Meio Ambiente e Desenvolvimento/UFPR - Interações entre os processos produtivos, meio ambiente e qualidade de vida na região da baía de Paranaguá e região metropolitana de Curitiba - geração de propositadas e desenvolvimento. 1994.

- Noernberg, M.A. (2001). Processos morfodinâmicos no complexo Estuarino de Paranaguá - Paraná - Brasil: um estudo a partir de dados in situ e landsat-TM.
- Peng, X.; Zhang, G.; Mai, B.; Hu, J.; Li, K.; Wang, Z. (2005). Tracing anthropogenic contamination in the Pearl River estuarine and marine environment of South China Sea using sterols and other organic molecular markers. *Marine Pollution Bulletin* **50**, 856-865.
- Quéméneur, M., & Marty, Y. (1992). Sewage influence in a macrotidal estuary: fatty acids and sterol distributions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **34**, 347-363.
- Readman, J.W.; Fillmann, G.; Tolosa, I.; Bartocci, J.; Mee, L.D.(1986). The use of pollutant and biogenic markers as source discriminants of organic inputs to estuarine sediments. *Environmental Analytic Chemistry* **27**, 29-54.
- Ruttenberg, K.C. & Goñi, M.A (1997). Phosphorus distribution, C:N:P ratios, temperate and tropical coastal sediments: tools for characterizing bulk sedimentary organic matter. *Marine Geology* **139**, 123-145.
- Saliot, A. (1994). Oceanis. *Marine Organic Biogeochemistry* **20**, 1-197.
- Santos, E.S. (1997). Contribuição ao estudo de caracterização da matéria orgânica em estuários tropicais: relação C/P orgânicos no sedimento da Baía de Guanabara. UERJ, Rio de Janeiro, 54 p.
- Shaw, P.M. & Johns, R.B. (1986). The identification of organic input sources of sediments from the Santa Catalina Basin using factor analysis. *Organic Geochemistry* **10**, 951-958.

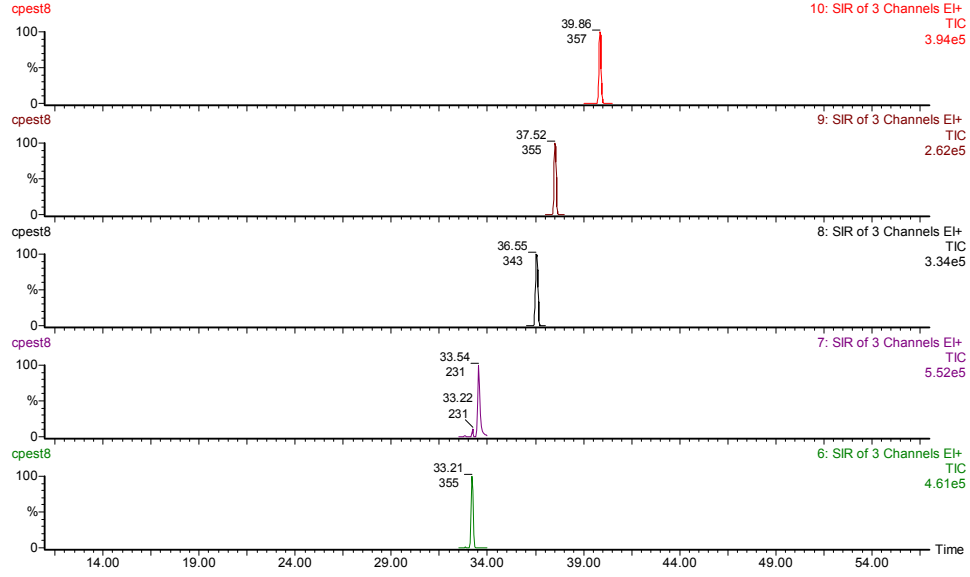
- Sherwin, M.R., Van. A.; Fossato, E.S, & Dolci, F. (1996). Coprostanol in lagonal sediments and mussels of Venice, Italy. *Marine Pollution Bulletin* **26**, 501-507.
- Solic, M. & Krstulovic, N. (1992). Separate and combined effects of solar radiation, temperature, salinity and pH on the survival of fecal coliforms in seawater. *Marine Pollution Bulletin* **24**, 411-416.
- Takada,H. & Eganhouse. R.P. (1998). Molecular markers of anthropogenic. In: Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation. New York.
- Venkatesan, M.I. & Santiago, C.A. (1989). Sterols in ocean sediments: novel tracers to examine habitats of cetaceans, pinnipeds, penguins and humans. *Marine Biology* **102**, 431-437.
- Venkatesan, M.I. & Kaplan, I.R.(1990) Sedimentary coprostanol as an index of sewage addition in Santa Mônica Basin, southern California. *Environmental Science and Technology* **24**, 208-214.
- Venkatesan, M.I. & Mirsadeghi, F.H. (1992) Coprostanol as sewage tracer in McMurdo Sound, Antártica. *Marine Pollution Bulletin* **25**, 328-333.
- Venkatesan, M.I.; Ruth. E. & Kaplan, I.R. (1986). Coprostanols in Antarctic marine sediments: a biomarker for marine mammals and nothuman pollution. *Marine Pollution Bulletin* **17**, 554-557.
- Volkman, J.K. (1986). A review of sterol markers for marine and terrigenous organic 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.

- Volkman, J.K., Barrett, S.M., Blackburn, S.I., Mansour, M.P., Sikes, E.L. & Gelin, F. (1998). Microalgal biomarkers: A review of recent research developments. *Organic Geochemistry* **29**, 1163-1179.
- Volkman, J.K.; Barret, S.M.; Dunstan, G.A. (1994). Sterol biomarkers for microalgal from the green algal class prosinophyceal. *Organic Geochemistry* **21**, 1211-1218.
- Weber, R.R. (1992). Sistemas costeiros e Oceânicos. *Química Nova* **15**, 137-143.

ANEXOS

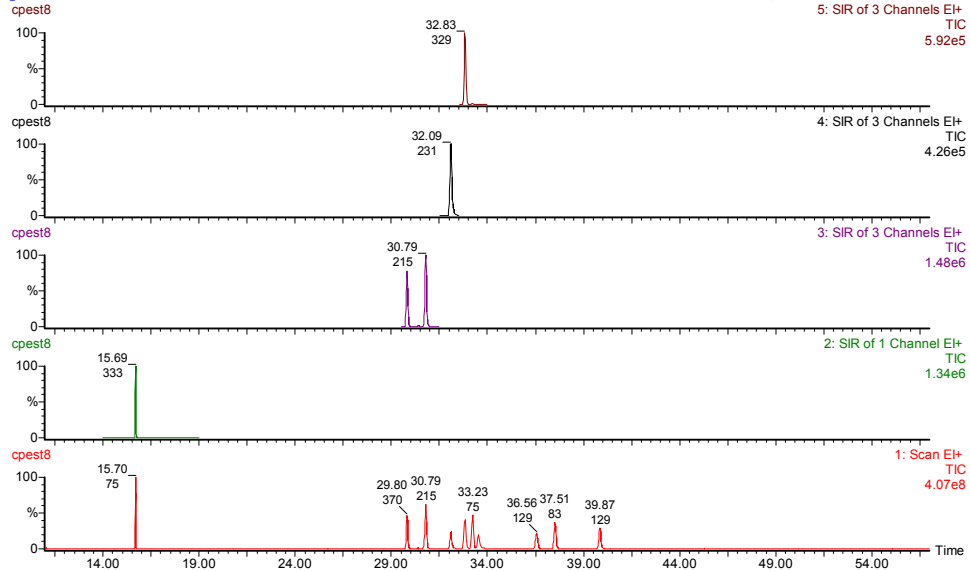
padrao esteroides 8

, 23-Nov-2005 + 13:27:45



padrao esteroides 8

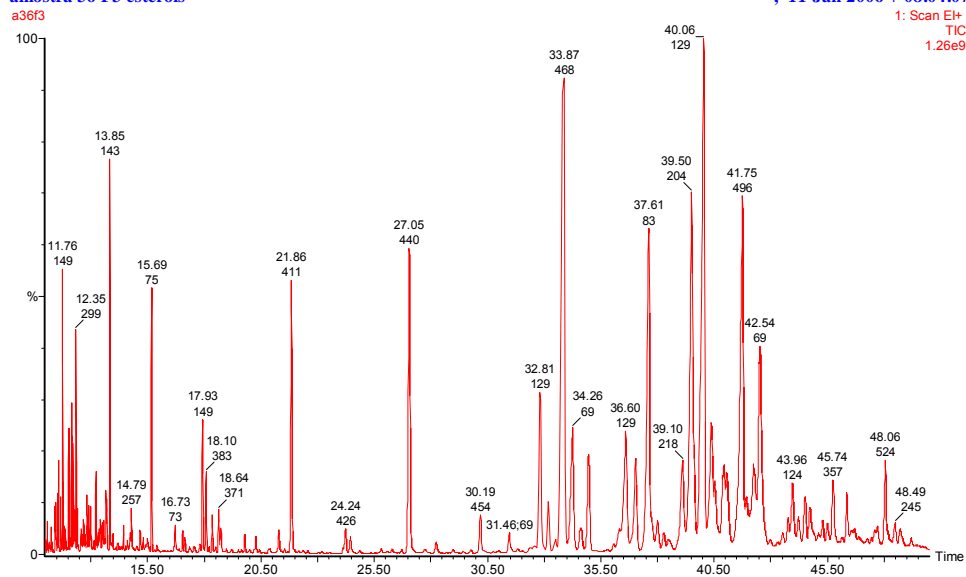
, 23-Nov-2005 + 13:27:45



Anexo 1 – Cromatograma padrão de esteróides.

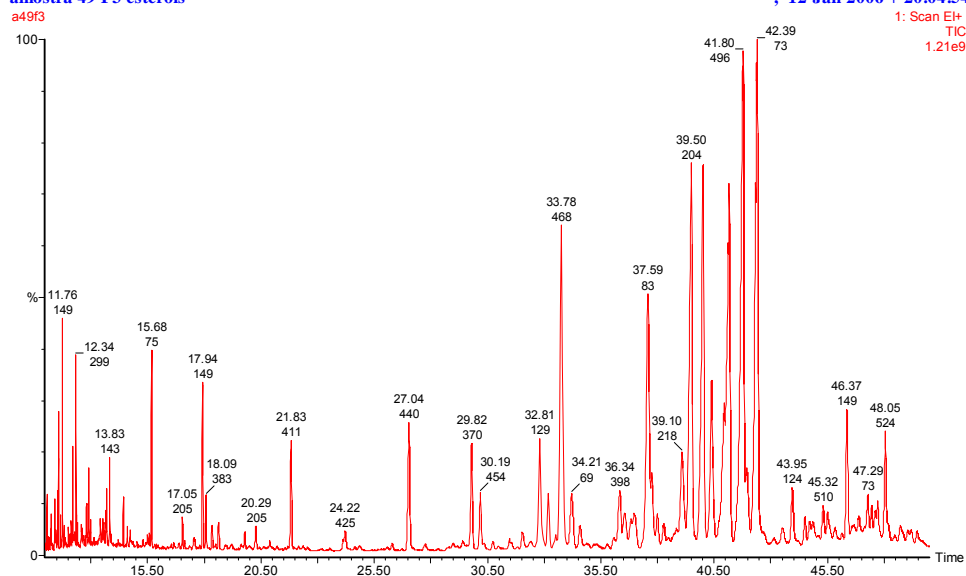
amostra 36 F3 esteroides

, 11-Jan-2006 + 08:04:07



amostra 49 F3 esteroides

, 12-Jan-2006 + 20:04:54



Anexo 2 – Cromatogramas obtidos das análises para esteróides.