

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA E ECOLOGIA
GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA

BETHÂNIA DAL'COL LEHRBACK

TERPENÓIDES COMO BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS
DO SEDIMENTO NA AVALIAÇÃO DAS FONTES DE
MATÉRIA ORGÂNICA NA PORÇÃO NORTE DA BAÍA DE
VITÓRIA – ES

VITÓRIA
2009

BETHÂNIA DAL'COL LEHRBACK

TERPENÓIDES COMO BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS
DO SEDIMENTO NA AVALIAÇÃO DAS FONTES DE
MATÉRIA ORGÂNICA NA PORÇÃO NORTE DA BAÍA DE
VITÓRIA – ES

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Oceanografia, do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Oceanografia.

Orientador: Prof. Dr. Renato Rodrigues Neto.

VITÓRIA
2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA

TRITERPENÓIDES COMO BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS NA AVALIAÇÃO DAS FONTES DE MATÉRIA ORGÂNICA DA PORÇÃO NORTE DA BAÍA DE VITÓRIA, ES

por

BETHÂNIA DAL'COL LEHRBACK

Submetido como requisito parcial para a obtenção de grau de

Oceanógrafo

na

Universidade Federal do Espírito Santo

Dezembro de 2009

© Bethânia Dal'Col Lehrback

Por meio deste, o autor confere ao Colegiado do Curso de Oceanografia e ao Departamento de Ecologia e Recursos Naturais da UFES permissão para reproduzir e distribuir cópias parciais ou totais deste documento de monografia para fins não comerciais.

Assinatura do autor

Bethânia D.C.L.
Curso de graduação em Oceanografia
Universidade Federal do Espírito Santo
14 de dezembro de 2009

Certificado por

Renato Rodrigues Netto
Dr. Renato Rodrigues Netto
Orientador – DOC/CCHN/UFES

Certificado por

Gilberto Fonseca Barroso
Dr. Gilberto Fonseca Barroso
Examinador Interno – DOC/CCHN/UFES

Certificado por

Maria de Fátima Fontes Lelis
Dra. Maria de Fátima Fontes Lelis
Examinador Interno – DQUI/CCE/UFES

Aceito por

Gilberto Fonseca Barroso
Gilberto Fonseca Barroso
Prof. Adjunto / Coordenador do Curso de Oceanografia
DOC/CCHN/UFES

AGREDECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus por estar sempre ao meu lado me dando força nos momentos difíceis e tornar esse momento possível.

Aos meus pais, Ângela e Humberto por estarem presentes em todos os momentos da minha vida dando apoio, incentivando e aplaudindo minhas vitórias.

À minha falecida avó Armelinda por ter marcado minha vida com sendo esta pessoa tão especial que ela representa, e com muita estima que venho homenageá-la com essa conquista.

À minha irmã Roberta, por toda a sua dedicação e preocupação durante todos esses anos, sempre cuidando de mim e acompanhando de perto o meu crescimento.

Ao meu namorado André, por todos os momentos felizes que passamos. À sua amizade, companheirismo e incentivo, sempre acreditando que eu conseguiria.

Ao meu orientador Dr. Renato por sua dedicação, ajuda e ensinamentos transmitidos que foram muito importantes para minha formação acadêmica.

Aos amigos do Laboratório de geoquímica Ambiental (LabGAm), Dudu, Carol Grillo e Tiago. A ajuda e a amizade de vocês foi muito importante para que esse momento fosse alcançado.

Às amigas Mari Bráz, Mari gripp e Carol por toda a sua amizade e companheirismo durante todos esses anos da graduação, sempre ajudando e incentivando.

À Maristela, e todo o pessoal do Labpetro, pela disponibilidade do Cromatógrafo, e por toda a sua ajuda quando os resultados não estavam dando certo.

E a todos os que participaram direta e indiretamente contribuindo para meu crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

O sistema estuarino da baía de Vitória (ES) está localizado entre as coordenadas 20°14' - 20°20'S e 40°17' - 40°21'W. Esta baía abrange um sistema estuarino importante, recebendo aporte fluvial através dos tributários dos rios Bubu, Itanguá, Marinho, Aribiri e Santa Maria da Vitória. No decorrer do desenvolvimento da região metropolitana, vários impactos ambientais surgiram decorrentes dessa ocupação desordenada, dentre os quais pode-se citar, o despejo de esgotos domésticos não tratados, atividades industriais, portuárias, aterros e dragagens, que contribuem fortemente com o aumento de poluição orgânica, inorgânica e biológica. Apesar dessa elevada ocupação, a região mais ao norte ainda se encontra bastante preservada, sendo observadas extensas áreas de manguezais caracterizadas pela presença das espécies *Rhizophora mangle* (predominante) e *Laguncularia racemosa*. O presente trabalho faz uma caracterização do aporte de matéria orgânica para o sedimento utilizando biomarcadores geoquímicos, sendo observada predominância de origem de material detrítico de vegetação de manguezais, devida a presença de triterpenóides típicos de folhas de mangue, como o taraxerol, α - e β -amerina, lupeol e germanicol, sendo o taraxerol de maior concentração bem como pela presença de esteróis da série C₂₉ (e.g. sitosterol e estigmasterol), que são típicos de plantas superiores. Outros tipos de esteróis também foram observados, como os da série C₂₈ e C₂₇ (e.g. colesterol), porém em menor abundância, caracterizando aporte por outras fontes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de degradação do taraxerol e β -amerina, componentes típicos de manguezais.....11

Figura 2 - Imagem de Satélite do Sistema Estuarino da Baía de Vitória, localizado na capital do Espírito Santo.....15

Figura 3 - Concentração ($\mu\text{g/g}$ P.S.) do triterpenóide taraxerol e esterol $\text{C}_{29}\Delta^5$, característicos de plantas superiores.....23

Figura 4 - Espectro de massa do taraxerol (adquirido de m/z 50 a 400).....23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações ($\mu\text{g/g}$ P.S.) de triterpenóides e esteróis constituintes da MO sedimentar da baía de Vitória.....	22
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. Objetivos Gerais.....	12
2.2. Objetivos Específicos.....	12
3. METODOLOGIA.....	13
3.1. Área de Estudo.....	13
3.2. Amostragem em Campo.....	16
3.3. Matéria Orgânica Total.....	16
3.4. Extração dos Lipídeos.....	17
3.5. Identificação e Quantificação.....	19
4. RESULTADOS.....	21
5. DISCUSSÃO.....	24
6. CONCLUSÕES.....	29
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

Estuários são ambientes costeiros que se encontram posicionados entre o continente e o oceano e estão localizados na foz de rios, apresentando uma elevada importância para os processos biogeoquímicos da matéria orgânica (MO) e exportação de material. A origem desta em ambientes estuarinos apresenta-se bastante complexa, podendo prover de fontes autóctones (produção primária *in situ*) e alóctones (fontes antropogênicas, como detrito industrial e águas residuais não tratadas; material terrestre transportado via aporte fluvial, como detritos de plantas superiores; e material oceânico, via exportação pela maré) (MANNINO; HARVEY, 1999; RULLKÖTTER, 2000; MEDEIROS *et al.*, 2005; XU *et al.*, 2006; KRISTENSEN *et al.*, 2008).

A complexidade que abrange habitats aquáticos costeiros está relacionada à presença de elevados gradientes de salinidade, turbidez e variações na composição química das águas, como alterações nas concentrações de nutrientes, gases dissolvidos e metais traço, criando condições propícias ao desenvolvimento de ecossistemas manguezais (ELLIOTT; MCLUSKY, 2002; MOBERG; RÖNNBÄCK, 2003). Sua vegetação é caracterizada pela presença de plantas superiores do tipo halófitas encontradas na zona entre-marés, sendo tolerantes às variações de salinidade encontradas nos sistemas estuarinos (BOUILLON *et al.*, 2003; OKU *et al.*, 2003; BASYUNI *et al.*, 2007).

Em estuários tropicais e subtropicais encontram-se os ecossistemas manguezais. Estes apresentam a capacidade de servir como depósito de sedimentos em suspensão na coluna d'água, acumulando MO. Tal eficiência depende de uma variedade de fatores, como o tamanho do grão, salinidade, bombeamento da maré e o alcance da área da zona entre-marés. São considerados um dos ecossistemas aquáticos mais produtivos, podendo transportar carbono orgânico para sistemas adjacentes, sendo, portanto, importantes na ciclagem global do carbono (KILLOPS; FREWIN, 1994; BOUILLON *et al.*, 2003; BASYUNI *et al.*, 2007; KRISTENSEN *et al.*, 2008).

A elevada taxa de produtividade confere a estes ecossistemas importância para o recrutamento pesqueiro, tanto para espécies de peixes quanto para outros tipos

de recursos (e.g. mexilhões), já que o fornecimento de matéria orgânica contribui para a manutenção da biodiversidade local. Assim, vem ocorrendo intensa pressão antrópica sobre esses ecossistemas, resultante da ocupação urbana em áreas adjacentes, bem como da exploração desordenada dos recursos, provocando uma rápida mudança ambiental (BASYUNI *et al.*, 2007; BELLIGOTTI *et al.*, 2007).

Por esses motivos, o conhecimento acerca da composição lipídica (fração da MO) dos manguezais apresenta relevância ecológica, pois esta análise proporciona o discernimento entre as possíveis fontes de MO, apesar desta representar uma pequena fração do sedimento estuarino (peso seco). Então, é possível inferir, e melhor entender, as possíveis mudanças acarretadas pelas atividades humanas e avaliar a qualidade ambiental (GOMES; AZEVEDO, 2003; OTTO; SIMPSON, 2005; BELLIGOTTI *et al.*, 2007).

Compostos lipídicos que apresentam alguma informação, que mantém sua “assinatura” (i.e. *fingerprint*), quanto a sua origem ou processos específicos são denominados biomarcadores geoquímicos ou marcadores moleculares (MANNINO; HARVEY, 1999; JAFFÉ *et al.*, 2001; MEDEIROS; BÍCEGO, 2004; OTTO; SIMPSON, 2005; MEDEIROS *et al.*, 2005). Estes vêm sendo muito utilizados por vários autores em diferentes trabalhos envolvendo os ecossistemas aquáticos, desde a determinação de fontes de poluição, como na distinção entre as possíveis origens da MO, seja por aporte autóctone quanto alóctone.

Lípídeos são compostos orgânicos apolares solúveis em solventes orgânicos não polares, e que são produzidos biologicamente. A baixa solubilidade em água desses compostos se baseia em sua estrutura de hidrocarbonetos (cadeias compostas por átomos de hidrogênio e carbono), característica responsável por sua elevada taxa de persistência durante a sedimentação, se comparadas com outras classes de compostos biogênicos, como aminoácidos e açúcares (RULLKÖTTER, 2000; BRUICE, 2006), por isso podem ser utilizados como biomarcadores, já que mantém informação preservada em seu esqueleto carbônico após a sedimentação (RULLKÖTTER, 2000).

Segundo Simoneit (1986), os terpenóides (poliisoprenóides) compreendem uma importante classe de compostos lipídicos utilizados como biomarcadores,

comumente encontrados no reino vegetal, principalmente naqueles que apresentam clorofila. Embora alguns tipos de terpenos não sejam estáveis no ambiente, seus produtos diagenéticos podem ser preservados na geosfera, assim é necessário analisar não somente os precursores naturais, mas também seus produtos.

Terpenóides são hidrocarbonetos cíclicos, e alguns tipos destes compostos apresentam uma função oxigenada em sua estrutura, formados pela combinação de duas ou mais unidades de isopreno (C_5H_8), sendo este um hidrocarboneto ramificado que possui duas insaturações. A biossíntese dos triterpenóides e esteróis se inicia com a ciclização do esqualeno, um triterpenóide acíclico (SIMONEIT, 1986; RULLKÖTTER, 2000).

Estes compostos são comumente utilizados na caracterização da MO sedimentar de ecossistemas manguezais e outros ambientes aquáticos. Os triterpenóides (composto pentacíclico ($C_{30}H_{48}$) constituído por seis unidades de isopreno; e.g. taraxerol, lupeol, germanicol, amerina) e os esteróis da série C_{29} (e.g. sitosterol, estigmasterol) são originados por plantas superiores, sendo importantes biomarcadores de manguezais, já que são encontrados nas ceras epicuticulares destes vegetais (KILLOPS; FREWIN, 1994; RULLKÖTTER, 2000; JAFFÉ *et al.*, 2001; BOUILLON *et al.*, 2003; KOCH *et al.*, 2003; OKU *et al.*, 2003; JAFFÉ *et al.*, 2006; XU *et al.*, 2006; BASYUNI *et al.*, 2007; MEDEIROS; SIMONEIT, 2008).

Já os esteróis C_{27} (e.g. colesterol) e C_{28} são característicos de microorganismos, como fito, zooplâncton e bactérias (VOLKMAN *et al.*, 1998; KOCH *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2006), entretanto o C_{28} também pode ser biossintetizado por plantas superiores. Sendo assim, devida a complexa origem dos esteróis, sua utilização como biomarcadores específicos fica restrita, então a caracterização de sua distribuição pode fornecer melhores informações quando associadas a outros dados, como a utilização de outros biomarcadores (XU *et al.*, 2006).

Outros importantes pentacíclicos triterpenóides são os hopanóides, que são compostos comumente encontrados nas paredes celulares das bactérias (SIMONEIT, 1986).

Esta MO de origem biogênica é considerada lábil sob condições sedimentares, devida a sensibilidade destes para a degradação oxidativa, ora mediada

quimicamente, ora biologicamente (RULLKÖTTER, 2000). Pois, uma vez no ambiente esses compostos estão susceptíveis a uma série de reações diagenéticas originando novos compostos (TEN HAVEN *et al.*, 1996b). Um exemplo de processo diagenético para dois tipos de triterpenóides (taraxerol e β -amerina) esta esquematizado na Figura 1.

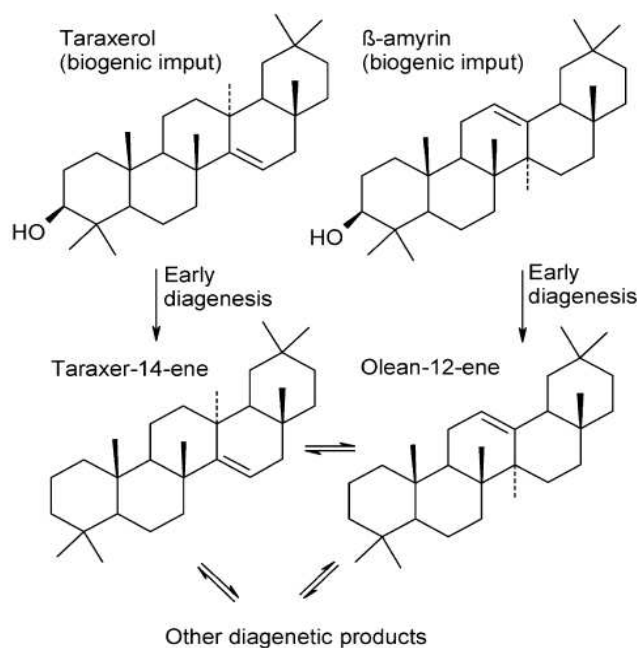


Figura 1: Processo de degradação do taraxerol e β -amerina, componentes típicos de manguezais (Neto *et al.*, 2006a).

O presente estudo é um subprojeto do “Projeto de Avaliação Ambiental Integrada de Ambientes Estuarinos: Estudo de Caso do Sistema Estuarino da Grande Vitória (Espírito Santo)”, projeto financiado pela FACITEC, edital nº 2008, que visa estudar a porção noroeste da baía de Vitória de maneira a avançar no conhecimento desta com dados que fundamentam a possível implementação de aquicultura. Este subprojeto, especificamente, tem como foco avaliar o aporte de plantas superiores na porção norte da baía de Vitória. Esta análise se torna importante porque a qualidade e a quantidade de MO na coluna d’água e sedimento, pode influenciar diretamente a biota desde a sua distribuição até a quantidade de gordura (NETO *et al.*, 2006b; NARVÁEZ *et al.*, 2008).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

O objetivo geral do presente trabalho é avaliar o aporte de matéria orgânica derivada de plantas superiores, para o sedimento superficial da porção norte da baía de Vitória.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar e quantificar quais os tipos de triterpenóides presentes no sedimento;
- Avaliar a degradação dos compostos provenientes de plantas superiores;
- Identificar a distribuição do aporte destes na porção norte da baía de Vitória (ES).

3. METODOLOGIA

3.1. Área de Estudo

O sistema estuarino da baía de Vitória está localizado na cidade de Vitória, capital do Espírito Santo. Situa-se entre as coordenadas 20°14' - 20°20'S e 40°17' - 40°21'W (Figura 2). A bacia hidrográfica desse sistema é representada por tributários de médio porte (rio Santa Maria da Vitória), e de pequeno porte (rios Bubu, Itanguá, Marinho e Aribiri).

A hidrodinâmica do local é caracterizada pela ação da maré (CHACALTANA *et al.*, 2003). Sendo assim, é observado no canal, através da entrada de água salina e conseqüente mistura com água doce proveniente dos tributários, a formação de ambientes típicos estuarinos, como os manguezais. Este estuário pode ser classificado como um estuário de cunha salina, sendo possível observar valores crescentes de salinidade em direção ao fundo (COSTA, 2001).

A baía de Vitória apresenta em suas adjacências uma área de manguezais com cerca de 20 km². Antigamente os manguezais representavam uma área mais significativa ao sistema estuarino, entretanto, devido ao aumento da ocupação urbana das populações ribeirinhas nesta região, o manguezal sofreu uma considerável redução, e vem sendo impactada pela pressão dessa ocupação populacional. A porção mais ao norte do estuário, próximo aos rios Santa Maria da Vitória e Bubu, são os locais que apresentam as áreas de manguezais mais preservadas, observando-se a presença de espécies como *Rhizophora mangle* (predominante) e *Laguncularia racemosa* (JESUS *et al.*, 2004; NALESSO *et al.*, 2005).

A região urbana no entorno do sistema estuarino é composta pelas cidades de Vitória, Vila Velha, Serra e Cariacica. Nalesso *et al.* (2005), observaram como principais impactos ambientais decorrentes do desenvolvimento da cidade, o despejo de esgotos domésticos não tratados (aproximadamente 70%), atividades industriais, portuárias, aterros e dragagens, que contribuem fortemente com o aumento de poluição orgânica, inorgânica e biológica, sendo que a elevada

descarga de esgoto provoca a diminuição da diversidade e do teor de oxigênio dissolvido, bem como no enriquecimento de matéria orgânica presente no sedimento. Nalesso *et al.* (2005) também afirmam a combinação de todos esses fatores caracterizam o sistema estuarino da baía de Vitória (ES) como um dos estuários mais degradados do Brasil.

Em um estudo realizado por Chacaltana *et al.* (2003), para avaliar o padrão de escoamento do sistema estuarino da baía de Vitória, foi observado que, a região de alagamento do manguezal acarreta um aumento na velocidade das correntes regidas pela maré (períodos de enchente e vazante), avaliando a renovação de água dentro do sistema. Se o tempo de permanência for elevado, essa água pode sofrer processos de eutrofização, afetando sua qualidade, já que essas sofrem com o *input* de esgotos não tratados e tratados, sendo que estes últimos são efluentes das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), localizadas nos bairros de Muembá e Jardim Camburi.

3.2. Amostragem em campo

Foram determinadas 35 estações (a distância entre elas era de 500 m) de amostragem em pontos estratégicos (desembocaduras de rios, próximos a margens de regiões urbanizadas entre outros) na porção noroeste da baía de Vitória, sendo as coletas realizadas em duas datas, dia 16/09/09 e 28/10/09. Tais dias apresentaram uma amplitude de maré de 1,5 m (maré de sizígia, período de enchente) e 0,7 m (maré de quadratura, período de enchente) (DHN, 2009), respectivamente, de acordo com a previsão para o Porto de Vitória. O período de coleta correspondeu à primavera, período seco (setembro) e chuvoso (outubro), porém antes da chuva.

Em cada estação foram medidos *in situ* dados físico-químicos de temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade, utilizando-se um multiparâmetro (YSI 85). A coleta de sedimento em cada estação foi realizada utilizando-se uma draga de Petersen a amostragem foi de sedimento superficial, até a porção busca fundo da draga.

Entretanto, para a realização deste trabalho foram escolhidos, aleatoriamente, 8 pontos, sendo eles: 16, 17, 21, 22, 25, 29, 33 e 35, caracterizando, portanto, a porção norte da baía de Vitória.

O sedimento foi então armazenado em frascos escuros devidamente identificados, acondicionados em caixa térmica contendo gelo, até a chegada ao laboratório, onde foram congelados à -18°C.

3.3. Matéria Orgânica Total

Foi realizada a determinação do teor de matéria orgânica total no sedimento, para isso elas foram previamente liofilizadas com a finalidade da retirada de umidade, pois esta interfere na análise, posteriormente foi pesado cerca de 1 g de sedimento (peso seco). Os cadinhos foram previamente, antes da pesagem,

lavados e secos utilizando-se uma estufa a 60 °C, em seguida seguiram para um dessecador onde permaneceram até esfriarem, isentos de umidade. Em seguida, cada cadinho, então, foi devidamente identificado e pesado, assim, somando-se o peso do sedimento com o peso do cadinho tem-se o peso inicial (P_i) das amostras.

A queima da matéria orgânica é realizada durante um período de 5 h em uma mufla a 550 °C. Os cadinhos contendo as amostras foram transferidos para o dessecador para esfriarem sem absorver umidade. Por fim, cada amostra é novamente pesada, e o resultado foi expresso em porcentagem de peso seco (%MO P.S.) segundo a equação:

$$\%MO = \left[\frac{(P_i - P_{ii})}{P_{ii}} \right] \times 100$$

Onde, P_i é o peso da amostra mais o peso do cadinho antes da calcinação, e P_{ii} é o peso após a calcinação.

3.4. Extração dos Lipídeos

Cada amostra foi liofilizada (secagem a frio utilizando um liofilizador por um período de 72h à cerca de – 35°C), para eliminação do teor de água. Em seguida, elas foram novamente congeladas até a realização do procedimento de extração.

Foram extraídos cerca de 2g (peso seco) de sedimento. O procedimento para extração de lipídeos segue a seguinte metodologia: primeiramente, foram adicionadas as amostras uma solução de diclorometano (DCM):metanol na proporção de 9:1 volume/volume, por meio de banho de ultra-som por 15 minutos, seguido de centrifugação por mais 15 minutos (rotação de 3000 RPM) com a finalidade de separar a fase líquida da fase sólida, então o sobrenatante foi retirado usando-se uma pipeta de Pasteur e em seguida, transferido para um

balão de fundo chato devidamente identificado. Este processo foi repetido por mais duas vezes, combinando os solventes (extratos) ao final. Os balões contendo as amostras foram submetidos a um Evaporador Rotativo, com a finalidade de evaporar o solvente restando apenas o extrato. Então, os extratos resultantes foram transferidos para recipientes de vidro, usando diclorometano para realizar a transferência, e secados sob fluxo de nitrogênio (N_2).

Em seguida foi realizada a etapa da saponificação. Esta consiste na separação entre a fração ácida da fração neutra, presentes na composição lipídica total, uma vez que o objetivo do presente trabalho é analisar os compostos lipídicos neutros, mais especificamente os triterpenóides. Primeiramente, foi adicionado 100 mL de água destilada e 10 mL de DCM a um funil de separação, agitando-se o funil e abrindo-se a válvula para aliviar a pressão interna, então o funil foi deixado em repouso até que todo o DCM decante, para que o mesmo pudesse ser descartado; repetiu-se a adição e descarte do solvente por mais duas vezes. Este processo tem por finalidade eliminar os interferentes orgânicos presentes na água. Para a extração dos compostos neutros, adicionou-se cerca de 5,6 g de Hidróxido de Potássio (KOH) à água e, posteriormente, o extrato combinado à 10 mL de DCM, deixando o funil em posição de repouso para que o DCM decante, e, então, a fração neutra possa ser recolhida em um balão de fundo chato; repete-se esse processo mais duas vezes, combinando os extratos ao final.

Novamente as amostras foram evaporadas utilizando um Evaporador Rotativo e o produto resultante transferido para os recipientes de vidro, secados sob fluxo de nitrogênio gasoso puro (N_2).

Foi realizado, em seguida, o fracionamento da amostra – esse procedimento é realizado apenas para a fração neutra. Tem como fundamento a cromatografia em coluna, processo que separa os diferentes compostos orgânicos baseados na diferença de polaridade entre eles. Foi pesado cerca de 7,1 g de sílica gel, previamente calcinada, a sílica foi então colocada dentro de uma coluna de separação juntamente com 20 ml de Hexano (um pouco a mais), colocando-se vagarosamente com o cuidado de não formar bolhas, pois estas diminuem a eficiência do processo de separação. As frações neutras foram separadas em Hidrocarbonetos alifáticos (fração 1 – F1), Hidrocarbonetos aromáticos (fração 2 –

F2), Ésteres (fração 4 – F4), Esteróis, Álcoois e Acetonas (Fração 7 – F7) e por fim os Polares (fração 8 – F8), separados utilizando-se as seguintes concentrações de solvente, respectivamente: 30 mL de hexano, 20 mL de hexano:tolueno (15:5; v/v), hexano:acetato de etila (19:1; v/v), 30 mL de hexano:acetato de etila (24:6; v/v) e 30 mL de metanol. O procedimento de fracionamento completo compreende oito frações, entretanto, para otimizar o trabalho, este foi reduzido à cinco frações. Somente a fração 7, a dos triterpenóides, será discutida neste trabalho. As outras frações serão discutidas em outras monografias ou dissertações.

As frações 7 de cada amostra foram submetidas ao processo de silanização, que consiste em uma reação de derivatização convertendo os esteróis a ésteres trimetil-silicosos em função da substituição do hidrogênio da hidroxila (-OH) pelo grupo trimetil-silício (-Si(CH₃)₃) aumentando sua volatilidade. Foi adicionado cerca de 50 µL do agente silanizante bistrimetilsilil-trifluoracetamida (BSTFA) a cada alíquota que foi, em seguida, acondicionada à 60°C, durante 40 min. Cessado o tempo de espera, os solventes foram novamente evaporados sob fluxo de N₂.

Por fim, os extratos resultantes serão submetidos à técnica da Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (GC-MS), para análise dos compostos. A quantificação de cada composto foi realizada ao adicionar um padrão interno a alíquota dos triterpenóides, sendo que o padrão interno utilizado foi o 5α-Colestano (concentração de 101µg/mL) , sendo adicionados um volume de 150 µL.

O GC-MS foi utilizado com um injetor split/splitless (modo splitless) e uma coluna capilar DB-5 (25mXo, 25 µm d.i.X 0,25 µm filme). O forno foi previamente aquecido a 60°C durante 1 min, sendo em seguida elevado até 310°C a uma taxa de 6°C/min, no qual se manteve a esta temperatura por mais de dez minutos. A temperatura do injetor foi ajustada para 290 °C, e o volume de amostra injetada foi de 1 µL.

3.5. Identificação e Quantificação

Para adquirir e processar os dados será usado o Software LabSolutions. A identificação dos compostos individuais ocorreu através da interpretação da massa espectral, comparação do espectro de massa e do tempo de retenção com aqueles do padrão autêntico quando disponíveis.

A concentração dos compostos foi expressa em µg/g. A quantificação seguiu os seguintes cálculos:

$$X = \frac{(A_c \times Vol\ padrão \times []padrão)}{A_p}$$

Onde,

Ac – Área do Composto

Ap – Área do Padrão

Vol padrão – volume do padrão

[]padrão – concentração do padrão

O valor de *X* é expresso em µg, e para chegar ao valor da concentração final foi realizado um segundo cálculo, onde se tem a concentração de cada composto (*[]cp*):

$$[]cp = \frac{(X \times 1g)}{massa\ do\ sedimento\ extraído}$$

4. RESULTADOS

Foram encontrados valores de MO (porcentagem em peso seco) variando de 6,1 (estação 35) a 38,7 (estação 17), como pode ser visualizado na Tabela 1.

Os resultados para os triterpenóides encontrados também estão listados na Tabela 1, dentre os quais o taraxerol (5 α -taraxer-14-an-3 β -ol) foi o composto mais abundante, sendo que sua concentração variou de 0,213 a 6,761 μ g/g, nas estações 25 e 29, respectivamente. Já nas estações 17 e 35, localizadas nos rios Bubu e Santa Maria da Vitória, respectivamente, não foi detectada a presença deste triterpenóide, bem como de nenhum outro composto. O gráfico apresentado na Figura 3 apresenta tais informações. A concentração do taraxerol pode estar um pouco superestimada em algumas amostras já que foi notada a coeluição com o esterol C₂₉ Δ^5 (Estigmast-5-an-3 β -ol), comumente chamado de sitosterol. Esta coeluição foi identificada através do espectro de massa pelos íons característicos m/z 129 e m/z 368, além do tempo de retenção (Figura 4).

Outros triterpenóides identificados, em menores concentrações do que o taraxerol, foram: α -amerina (5 α -Urs-12-en-3 β -ol) e β -amerina (5 α -olean-12-an-3 β -ol), germanicol (5 α -olean-18-an-3 β -ol), lupeol (5 α -lup-20(29)-an-3 β -ol) e possivelmente o α -amerinona (urs-12-ona), entretanto este último não ficou claramente identificado. Foi observada a presença de um composto do tipo hopanóide, mas ele não pode ser devidamente identificado por não se encontrar similar na literatura.

Na amostra 16 foi possível observar a presença de dois produtos diagenéticos do taraxerol, a taraxenona (taraxer-14-ona) e a taraxanona.

Também foram identificados outros tipos de esteróis dos tipos C₂₇, C₂₈ e C₂₉, sendo o mais abundante o C₂₇ Δ^5 (Colest-5-an-3 β -ol), comumente denominado de Colesterol.

Tabela 1: Concentrações (µg/g P.S.) de triterpenóides e esteróis constituintes da MO sedimentar da baía de Vitória.

Estações de amostragem									
	16	17	21	22	25	29	33	35	
$C_{27}\Delta^5$	0,12	-	-	0,13	-	0,63	0,13	-	-
$C_{27}\Delta^0$	0,17	-	-	-	-	0,29	0,38	-	-
$C_{28}\Delta^{5,22}$	-	-	-	-	-	0,21	-	-	-
$C_{28}\Delta^{22}$	-	-	-	-	-	0,10	-	-	-
$C_{28}\Delta^{5,22}$	-	-	-	-	-	0,08	-	-	-
$C_{28}\Delta^{22}$	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-
$C_{29}\Delta^0$	-	-	-	-	-	0,28	-	-	-
$C_{28}\Delta^5$	-	-	-	-	-	0,26	-	-	-
$C_{28}\Delta^0$	0,15	-	-	-	-	0,25	-	-	-
$C_{29}\Delta^{5,22}$	0,08	-	-	-	-	0,44	0,09	-	-
$C_{29}\Delta^{22}$	-	-	-	-	-	0,20	-	-	-
taraxenona	0,40	-	-	-	-	-	-	-	-
$C_{28}\Delta^{5,7}$	-	-	-	0,10	-	0,08	0,12	-	-
urs-12-ona ?	1,75	-	-	-	-	0,12	-	-	-
taraxerol + $C_{29}\Delta^5$	5,31	-	0,70	1,31	0,21	6,76	4,53	-	-
$C_{29}\Delta^0$	-	-	-	0,25	-	0,58	1,67	-	-
taraxanona	3,47	-	-	-	-	-	-	-	-
β -amerina	0,96	-	-	0,09	-	1,27	0,89	-	-
germaniol	0,46	-	-	0,10	-	0,79	0,57	-	-
α -amrina	0,36	-	-	-	-	0,01	-	-	-
lupeol	0,32	-	-	0,08	-	0,23	0,16	-	-
hopano	-	-	-	-	-	0,07	-	-	-
TOTAL	13,55	-	0,70	2,05	0,21	12,69	8,53	-	-
%MO ¹	10,8	38,7	20,9	21	10,2	18,8	25,8	6,1	

¹ Porcentagem (%) de Peso Seco (P.S.) de matéria orgânica no sedimento.

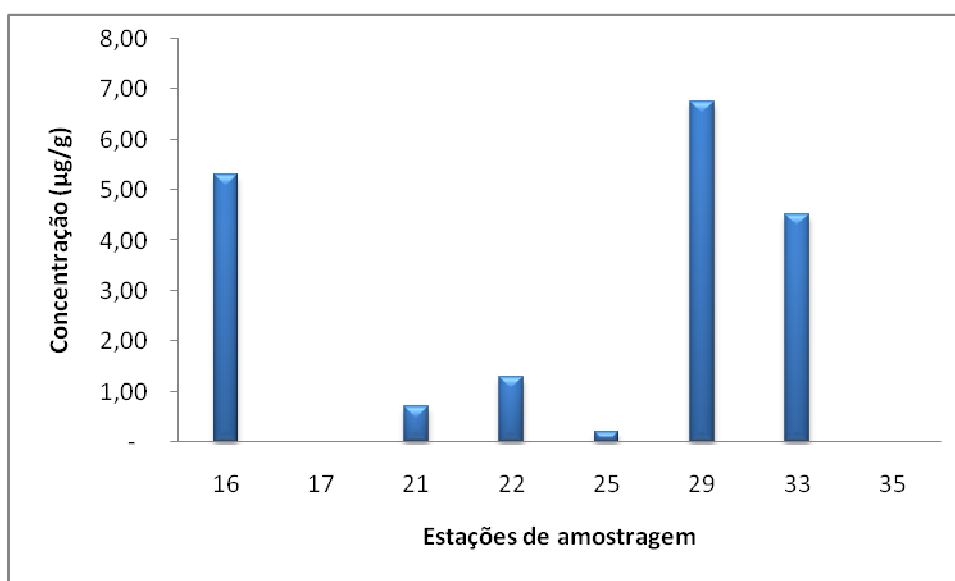


Figura 3: Concentração (µg/g P.S.) do triterpenóide taraxerol e esterol $C_{29}\Delta^5$, característicos de plantas superiores.

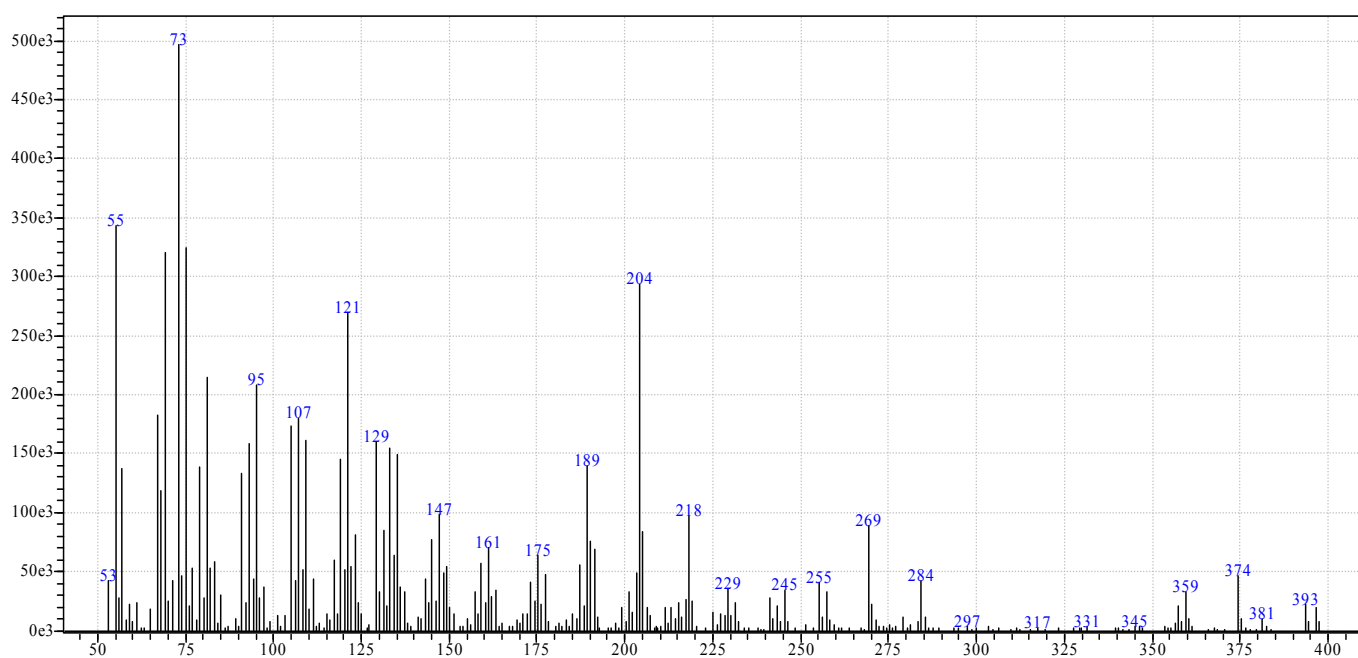


Figura 4: Espectro de massa do taraxerol (adquirido de m/z 50 a 400).

5. DISCUSSÃO

A distribuição da matéria orgânica dentro de um ambiente estuarino ocorre em função da granulometria do sedimento. Assim, quanto menor for o diâmetro do grão, maior a porcentagem de matéria orgânica, já que a área de contato aumenta e a MO adsorve mais facilmente na superfície do grão (D'AGOSTINI, 2005).

No trabalho realizado por D'Agostini (2005) em todo o sistema estuarino da baía de Vitória, valores de granulometria variando desde silte fino à areia grossa foram observados. A partir destes dados é possível inferir para o sedimento amostrado nas estações analisadas, que esta área pode ser caracterizada pela presença de valores de granulometria como, areia fina, areia muito fina, silte muito grosso e silte grosso, estão distribuídos na área de estudo do presente trabalho. Este resultado vai de acordo com os altos valores de porcentagem de matéria orgânica presente no sedimento superficial e os dados dos compostos identificados.

A porção norte da baía de Vitória é caracterizada pela presença de uma área de manguezal mais preservada do que o restante do sistema estuarino, sendo que as espécies encontradas são *R. mangle* (mangue vermelho) e *L. racemosa* (mangue branco). Esta região também recebe um aporte significativo dos rios Santa Maria da Vitória e Bubu (COSTA, 2001).

Estudos vêm sendo desenvolvidos em diferentes regiões, para ecossistemas manguezais, utilizando os pentacíclicos triterpenóides como biomarcadores, com o objetivo de avaliar a MO presente no sedimento amostrado nestes ecossistemas (KILLOPS; FREWIN, 1994; BOUILLON *et al.*, 2003; KOCH *et al.*, 2003; OKU *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2006 BASYUNI *et al.*, 2007).

Koch *et al.* (2003) realizaram um estudo na região norte do Brasil avaliando a composição de triterpenóides em folhas de três espécies diferentes de manguezais: *R. mangle*, *L. racemosa* e *Avicennia germinans*. A primeira espécie apresentou em sua composição germanicol, taraxerol, β -amerina e lupeol, como sendo os compostos mais abundantes. Já a segunda, apresentou o β -sitosterol e

o lupeol como prevalentes. E a última espécie foi caracterizada pela predominância de o β -sitosterol e β -amerina.

A predominância de pentacíclicos triterpenóides foi observada na maioria das estações amostradas, com exceção das estações 17 e 35. Tal observação é característica de um input de detritos de origem de plantas superiores (SIMONEIT, 1986; TEN HAVEN *et al.*, 1992b; POINSOT *et al.*, 1995; JAFFÉ *et al.*, 1995; 2006; NETO *et al.*, 2006a; MEDEIROS; SIMONEIT, 2008). O taraxerol é considerado um biomarcador específico para caracterizar MO derivada de detritos de manguezais, uma vez que este composto é mais resistente a degradação microbológica quando comparados com outros com outros compostos do tipo oleanona, como o β -amerina e germanicol (KILLOPS; FREWIN, 1994; KOCH *et al.*, 2003; BASYUNI *et al.*, 2007). A diferença na resistência para tal degradação pode ser explicada pela estereoconfiguração do grupo metil no carbono-13 (BASYUNI *et al.*, 2007).

Os pontos 16, 21, 22, 25, 29 e 33 apresentaram predominância do taraxerol (+ $C_{29}\Delta^5$), caracterizando um aporte detrítico proveniente de manguezais ou outras plantas superiores. Estes resultados estão de acordo com o que foi observado por Santos (2007), que realizou um estudo pretérito utilizando multi-biomarcadores lipídicos para caracterizar a MO presente no sedimento superficial, amostrados em todo o sistema estuarino da baía de Vitória.

Já as estações localizadas na desembocadura dos rios Santa Maria da Vitória e Bubu (35 e 17, respectivamente), nenhum pentacíclico triterpenóide foi detectado, este fato se deve provavelmente em função da elevada descarga fluvial, representando elevada hidrodinâmica local, o que acarreta em baixas taxas de sedimentação e como consequência baixa acumulação de MO nestes locais (COSTA, 2001). A estação 35 está de acordo com tal observação, uma vez que a %MO (P.S.) presente no sedimento foi de 6,1. Entretanto, a estação 17 foi a que maior apresentou %MO (P.S.), talvez pela distinta granulometria (D'AGOSTINI, 2005) e/ou alta produção primária no local (DIAS Jr, C. Com. oral).

Taraxenona (taraxer-14-ona), presente na amostra 16, é um derivado diagenético do taraxerol, sendo que o produto é formado via remoção do grupo funcional oxigenado no C-3. Tal reação pode ser mediada microbiologicamente (TEN

HAVEN *et al.*, 1992a; KILLOPS; FREWIN, 1994). Além da degradação microbiológica a reação de degradação também pode ser mediada fotoquimicamente, como foi observado em outros estuários tropicais, sendo que, uma vez na presença da intensa radiação solar característica destas regiões, a MO transportada pelos rios pode ser alterada fotoquimicamente (JAFFÉ *et al.*, 2006; XU *et al.*, 2006).

Segundo Neto *et al.* (2006a) a presença deste composto, indica que o local amostrado encontra-se degradado, tal resultado foi constatado através da utilização de uma razão entre a soma da concentração de taraxerol e β -amerina pela concentração de taraxenona, sendo que quanto menor esta razão, maior é a degradação da amostra. A razão pode ser calculada para a estação 16, que foi a única que apresentou taraxenona, o resultado foi um valor relativamente baixo (15,78), indicando que a amostra esta degradada, se comparados aos valores encontrados nas amostras analisadas por Neto *et al.* (2006a).

Outros produtos de degradação também foram observados na amostra 16, o taraxanona e o urs-12-ona (α -amerinona), reforçando a hipótese de degradação. Este último também foi observado na amostra 29, e tem como precursor diagenético o composto α -amerina (TEN HAVEN *et al.*, 1992b), embora não tenha sido identificado com certa precisão. O produto diagenético α -amerinona apareceu em maior concentração do que seu precursor em ambas as amostras.

Santos (2007), também observou em seu trabalho a presença de outros produtos de degradação além de taraxenona, taraxanona e α -amerinona. Também foram identificados os compostos lupanona e β -amerinona, uma vez que suas estações de amostragem abrangeram uma área mais representativa.

Não foram observados produtos de degradação nas amostras 21 e 25, entretanto, segundo Jaffé *et al.* (2006), isso pode significar que o taraxerol provavelmente foi encapsulado nas partículas orgânicas detríticas carregadas pelo fluxo fluvial, então, acabam ficando indisponíveis para alterações degradativas.

Os hopanos são compostos tipicamente utilizados para caracterizar a presença de combustíveis fósseis nas amostras (PAYET *et al.*, 1999). Entretanto, sua presença na amostra pode indicar a aporte bacteriano, já que eles são

encontrados nas paredes celulares de bactérias (SIMONEIT, 1986), uma vez que o sedimento amostrado é recente.

Os esteróis da série C_{29} caracterizam aporte de plantas superiores e gramíneas (JAFFÉ *et al.*, 1995; 2006; XU *et al.*, 2006; VOLKMAN *et al.*, 2007). Os C_{29} identificados foram: $C_{29}\Delta^5$ (Estigmast-5-an-3 β -ol), ou sitosterol; $C_{29}\Delta^{5,22}$ ((22E)-Estigmast-5,22-dian-3 β -ol), ou estigmasterol; $C_{29}\Delta^{22}$; $C_{29}\Delta^0$ (24-etilcolest-5 α (H)-na-3 β -ol).

Dentre os esteróis identificados os da série C_{29} foram os mais abundantes, indicando predominância de detritos alóctones (JAFFÉ *et al.*, 1995; 2006). O sitosterol esteve presente em quase todas as amostras, excluindo-se apenas as estações 17 e 35, sendo observado que esse composto saiu coeluído com o taraxerol. Tal observação pode ser realizada com base em seu pico base, o íon m/z 129 (JAFFÉ *et al.*, 2006), ter sido visualizado no espectro de massa do taraxerol (Figura 4), e também pelo tempo de retenção, uma vez que o sitosterol aparece no cromatograma antes do $C_{29}\Delta^0$, pelas diferenças ocorridas entre seus pesos moleculares.

Também foi observada a presença de compostos da série C_{28} , porém em concentrações menores. Tais compostos podem ser utilizados como biomarcadores de aporte fitoplanctônico (JAFFÉ *et al.*, 1995; XU *et al.*, 2006; VOLKMAN *et al.*, 1998; 2007). O $C_{28}\Delta^{22}$ (24-metilcoleta-22-an-3 β -ol) pode ser utilizado como biomarcador de fitoplâncton (JAFFÉ *et al.*, 1995). Também podem ser biossintetizados por plantas terrestres e outros tipos de algas (XU *et al.*, 2006).

É caracterizado como sendo um ambiente estuarino dominado por maré, entretanto, também é fortemente influenciado pelo fluxo fluvial, devido a presença de cinco rios que deságuam neste sistema (CHACALTANA *et al.*, 2003). Sendo assim, é possível observar a presença tanto de plâncton marinho como de plâncton dulcícola dentro do sistema, como foi proposto por Lucas *et al.* (dados não publicados).

Outro esterol muito abundante foi o $C_{27}\Delta^5$ (colest-5-an-3 β -ol), comumente conhecido como colesterol. Este tipo de composto apresenta origem animal, muito abundante em zooplâncton ou outra fauna marinha (JAFFÉ *et al.*, 1995; XU *et al.*,

2006). Em um estudo realizado por Sterza e Fernandes (2006) foi realizado um levantamento e caracterização da distribuição e abundância de organismos zooplanctônicos no sistema estuarino da baía de Vitória, sendo observados que estes estão bem distribuídos ao longo do gradiente de salinidade presente no sistema.

Santos (2007) também observou a presença de esteróis que caracterizam aporte por plantas superiores e organismos zooplanctônicos.

Sabe-se que estruturas lipídicas são susceptíveis a degradação, assim, a labilidade dos esteróis pode explicar a depleção destes compostos em certas estações (MANNINO; HARVEY, 1999).

6. CONCLUSÕES

Os triterpenóides identificados demonstraram que a influência terrígena na MO foi predominante quanto às fontes naturais, sendo de grande importância para as atividades biológicas do sistema estuarino da baía de Vitória, apresentando forte influência da vegetação de mangue.

Foram encontradas várias moléculas que apresentaram sinais de diagênese recente, uma característica das condições de ecossistemas tropicais.

Entretanto, aumentando-se a área de amostragem, realizando uma ampliação da distribuição dos pontos ao longo de todo o sistema estuarino, seria possível uma melhor avaliação de como essa distribuição ocorre em função do aporte terrígeno.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASYUNI, M.; OKU, H.; BABA, S.; TAKARA, K.; IWASAKI, H. Isoprenoids of Okinawan mangroves as lipid input into estuarine ecosystem. **Journal of Oceanography**, 63: 601-608, 2007.
- BELLIGOTTI, F. M.; CARREIRA, R. S.; SOARES, M. L. G. Contribuição ao estudo do aporte de matéria orgânica em sistemas costeiros: hidrocarbonetos biogênicos em folhas de mangue. **Geochimica Brasiliensis**, 21(1): 71 - 85, 2007.
- BOUILLON, S.; DAHDOUH-GUEBAS, F.; RAO, A.V.V.S.; KOEDAM, N.; DEHAIRS, F. Sources of organic carbon in mangrove sediments: variability and possible ecological implications. **Hydrobiologia**, 495: 33-39, 2003.
- BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**. 4 ed. v 2. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006.
- CHACALTANA, J. T. A.; MARQUES, A. C.; RIGO, D.; PACHECO, C. G. **Influência do manguezal no padrão de escoamento do sistema estuarino da ilha de Vitória – ES**. Trabalho apresentado na V Seminário Estadual sobre Saneamento e Meio Ambiente, Vitória, 2003. Disponível em: <http://www.abeses.org.br/paginas/recursos_hidricos.asp>. Acesso em: 15 nov 2009.
- COSTA, E. A. **Estudo de metais pesados no sistema estuarino da baía de Vitória – ES**. Tese de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2001.
- D`GOSTINI, D. P. **Fácies sedimentares associadas ao sistema estuarino da baía de Vitória – ES**. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Departamento de Oceanografia e Ecologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.
- DHN. Tábuas de Marés. Disponível em: <<https://www.mar.mil.br>>. Acesso em 10 de novembro de 2009.
- GOMES, A. de; AZEVEDO, D. A. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in tropical recent sediments of Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. **Journal Brazilian Chemical Society**, 14 (3): p. 358-368, 2008.

ELLIOTT, M.; MCLUSKY, D. S. The Need for Definitions in Understanding Estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 55: 815–827, 2002.

JAFFÉ, R.; WOLF, G. A.; CABRERA, A. C.; CHITTY, H. C. The biogeochemistry of lipids in rivers of the Orinoco Basin. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 59 (21): 4507-4522, 1995.

JAFFÉ, R.; MEAD, R.; HERNANDEZ, M. E.; PERALBA, M. C.; DIGUIDA, O. A. Origin and transport of sedimentary organic matter in two subtropical estuaries: a comparative, biomarker-based study. **Organic Geochemistry**, 32: 507-526, 2001.

JAFFÉ, R.; RUSHDI, A. I.; MEDEIROS, P. M.; SIMONEIT, B. R. T. Natural product biomarkers as indicator of sources and transport of sedimentary organic matter in a subtropical river. **Chemosphere**, 64: 1870-1884, 2006.

JESUS, H. C.; COSTA, E. A.; MENDONÇA, A. S. F.; ZANDONADE, E. Distribuição de Metais Pesados no Sistema Estuarino da Ilha de Vitória-ES. **Química Nova**, 27 (3): 378-386, 2004.

KILLOPS, S. D.; FREWIN, N. L. Triterpenoid diagenesis and cuticular preservation. **Organic Geochemistry**, 21 (12): 1193-1209, 1994.

KOCH, B. P.; RULLKÖTTER, J.; LARA, R. J. Evaluation of triterpenols and sterols as organic matter biomarkers in a mangrove ecosystem in northern Brazil. **Wetlands Ecology and Management**, 11: 257-263, 2003.

KRISTENSEN, E.; BOUILLON, S.; DITTMAR, T.; MARCHAND, C. Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. **Aquatic Botany**, 89: 201-209, 2008.

LUCAS, P. S.; ARAGON, G. T.; DIAS Jr., C. Dispersion of phytoplankton and nutrients from a sewage treatment station at an estuarine sub-system, Vitória – ES. Dados não publicados.

MANNINO, A.; HARVEY, H. R. Lipid composition in particulate and dissolved organic matter in the Delaware Estuary: Sources and diagenetic patterns. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 63 (15): 2219-2235, 1999.

MEDEIROS, P. M.; BÍCEGO, M. C. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers in Santos, SP – Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, 49: 761-769, 2004.

MEDEIROS, P. M.; BÍCEGO, M. C.; CASTELAO, R. M.; ROSSO, C. D.; FILLMAN, G.; ZAMBONI, A. J. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. **Environmental International**, 31: 77-87, 2005.

MEDEIROS, P. M.; SIMONEIT, R. R. T. Multi-biomarker characterization of sedimentary organic carbon in small rivers draining the Northwestern United States. **Organic Geochemistry**, 39: 52-74, 2008.

MOBERG, F.; RÖNNBÄCK, P. Ecosystem services of the tropical seascape: interactions, substitutions and restoration. **Ocean and Coastal Management**, 46: 27–46, 2003.

NALESSO, R. C.; JOYEUX, J. C.; QUINTANA, C. O.; TOREZANI, E.; OTEGUI, A. C. P. Soft-bottom macrobenthic communities of the Vitoria Bay Estuarine System, South-Eastern Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, 53(1/2): 23-38, 2005

NARVÁEZ, M.; FREITES, L.; GUEVARA, M.; MENDONZA, J.; GUDERLEY, H.; LODEIROS, C. J.; SALAZAR, G. Food availability and reproduction affects lipid and fatty acid composition of the brown mussel, *Perna perna*, raised in suspension culture. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 149: 293–302, 2008.

NETO, R. R.; MEAD, R. N.; LOUDA, W.; JAFFÉ, R. Organic biogeochemistry of detrital flocculent material (floc) in a subtropical, coastal wetland. **Biogeochemistry**, 77: 283-304, 2006a.

NETO, R. R.; WOLFF, G. A.; BILLET, D. S. M.; MACKENZIE, K. L.; THOMPSON, A. The influence of changing food supply on the lipid biochemistry of deep-sea holothurians. **Deep-sea Research I**, 53: 516-527, 2006b.

OKU, H.; BABA, S.; KOGA, H.; TAKARA, K.; IWASAKI, H. Lipid composition of mangrove and this relevance to salt tolerance. **Journal Plant Resource**, 116: 37-45, 2003.

OTTO, A.; SIMPSOM, M. J. Degradation and preservation of vascular plant-derived biomarkers in grassland and forest oils from Western Canada. **Biogeochemistry**, 74: 377-409, 2005.

PAYET, C.; BRYSELBOUT, C.; MOREL, J.-L.; LICHTFOUSE, E. Fossil fuel in sewage sludges: environmental significance. **Short Communication**, 1999.

POINSOT, J.; ADAM, P.; TRENDL, J. M.; CONNAN, J.; ALBRECHT, P. Diagenesis of higher plant triterpenes in evaporitic sediments. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 59 (22): 4653-4661, 1995.

RULLKÖTTER, J. Organic Matter: The Driving Force for Early Diagenesis. In: Schulz, H. D.; Zabel, M. **Marine Geochemistry**. Springer, 4: 129-172, 2000.

SANTOS, C. C. dos. **Utilização de biomarcadores lipídicos na avaliação da poluição ambiental na baía de Vitória e Canal da Passagem (Vitória-ES)**. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Departamento de Oceanografia e Ecologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.

SIMONEIT, B. R. T. Cyclic terpenoids of the geosphere. In: Johns, R. B. **Biological Markers in the Sedimentary Record**. Amsterdam, 2: 43-99, 1986.

STERZA, J. N.; FERNANDES, L. L. Zooplankton community of the Vitória Bay Estuarine System (southeastern Brazil). Characterization of three-years study. **Brazilian Journal of Oceanography**, 54(2/3): 95-105, 2006.

TEN HAVEN, H. L.; PEAKMAN, T. M.; RULLKÖTTER, J. Δ^2 – Triterpenes: Early intermediates in the diagenesis of terrigenous triterpenoids. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 56: 1993-2000, 1992a.

TEN HAVEN, H. L.; PEAKMAN, T. M.; RULLKÖTTER, J. Early diagenetic transformation of higher-plant triterpenoids in deep-sea sediments from Baffin Bay. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 56: 2001-2024, 1992b.

VOLKMAN, J. K.; BARRET, S. M.; BLACKBURN, S. I.; MANSOUR, M. P.; SIKES, E. L.; GELIN, F. Microalgal biomarkers: A review of recent research developments. **Organic Geochemistry**, 29 (5-7): 1163-1179, 1998.

VOLKMAN, J. K.; REVILL, A. T.; BONHAM, P. I.; CLEMENTSON, L. A. Sources of organic matter in sediments from the Ord River in tropical northern Australia. **Organic Geochemistry**, 38: 1039-1060, 2007.

XU, Y.; MEAD, R. N.; JAFFÉ, R. A molecular marker-based assessment of sedimentary organic matter sources and distributions in Florida Bay. **Hydrobiologia**, 569: 179-192, 2006.