

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE GEOLOGIA MARINHA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOLOGIA E  
GEOFÍSICA MARINHA

LUIZ FRANCISCO FONTANA

DISTRIBUIÇÃO DE HPAS E AVALIAÇÃO GEOMICROBIOLÓGICA  
NO MANGUEZAL DE SURUÍ, BAÍA DE GUANABARA, RJ, BRASIL.

LAGEMAR – UFF

Agosto – 2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DISTRIBUIÇÃO DE HPAS E AVALIAÇÃO GEOMICROBIOLÓGICA  
NO MANGUEZAL DE SURUÍ, BAÍA DE GUANABARA, RJ, BRASIL.

LUIZ FRANCISCO FONTANA

**Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Geologia e Geofísica Marinha (LAGEMAR)  
da Universidade Federal Fluminense, como  
requisito parcial para a obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências: área de concentração  
Geologia e Geofísica Marinha.**

Orientador: Prof. Dr. Alberto Garcia de Figueiredo Junior.

Co-Orientadora : Prof<sup>ª</sup>. Dra. Mirian Araújo Carlos Crapez.

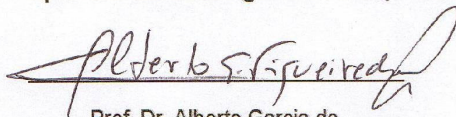
NITERÓI, RJ – BRASIL 2009

**LUIZ FRANCISCO FONTANA**

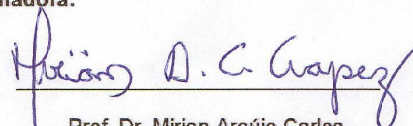
**DISTRIBUIÇÃO DE HPAS E AVALIAÇÃO GEOMICROBIOLÓGICA  
NO MANGUEZAL DE SURUÍ, BAÍA DE GUANABARA, RJ, BRASIL.**

Tese submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Geologia e Geofísica Marinha da Universidade Federal Fluminense como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências: área de concentração Geologia e Geofísica Marinha

Aprovada em de 05 Agosto de 2009, à Banca examinadora:



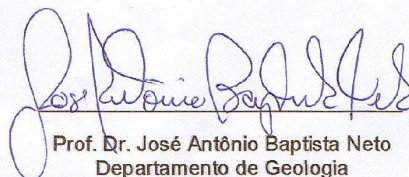
Prof. Dr. Alberto Garcia de Figueiredo Junior – Orientador  
Departamento de Geologia  
Universidade Federal Fluminense



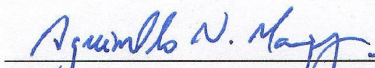
Prof. Dr. Mirian Araújo Carlos Crapez – Co-Orientadora  
Departamento de Biologia Marinha  
Universidade Federal Fluminense



Prof. Dr. Annibal Duarte Pereira Netto  
Departamento de Química Analítica  
Universidade Federal Fluminense



Prof. Dr. José Antônio Baptista Neto  
Departamento de Geologia  
Universidade Federal Fluminense



Prof. Dr. Aguinaldo Nepomuceno Marques Junior  
Departamento de Biologia Marinha  
Universidade Federal Fluminense



Dr. João Graciano Mendonça Filho  
Departamento de Geologia  
Universidade Federal do Rio de Janeiro



Prof. Dr. Thomas Manfred Krauss  
ENSP-FIOCRUZ

RIO DE JANEIRO - 2009

## FICHA CATALOGRÁFICA

F679

Fontana, Luiz Francisco

Distribuição de HPAs e avaliação geomicrobiológica no manguezal de Suruí, Baía de Guanabara, RJ, Brasil / Luiz Francisco Fontana. –Niterói : [s.n], 2009.

207 f.

Tese (Doutorado em Geologia e Geofísica Marinha) – Universidade Federal Fluminense, 2009.

1.Análise de sedimentos. 2. Hidrocarboneto Policíclico Aromático. 3. Baía de Guanabara (RJ). 5. Microbiologia do sedimento. 6. Biogeoquímica. I. Título.

CDD 551.468367

## DEDICATÓRIA

**Aos meus pais, Antônio Fontana e Sônia Marly Gonçalves Fontana, as minhas irmãs, Gabrielle Fontana e Manuela Fontana Alves, e meu cunhado Luciano Sandora Alves, por sempre me apoiarem nas horas mais difíceis dessa jornada e acreditarem em meu potencial.**

**Aos meus amores, Christiane Ragazi F. Fontana, Bhrenda F. Fontana e Bianca F. Fontana, pelo incentivo e compreensão nos momentos mais difíceis e principalmente pelo amor que existe entre nós.**

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Antônio Fontana e Sônia Marly Gonçalves Fontana, que são os meus maiores exemplos de determinação e companheirismo, e assim sempre foram vencedores nos momentos difíceis da vida.

A minha orientadora Dra. Mirian A. C. Crapez, que desde o começo confiou na minha determinação e no meu potencial, e assim apoiou meu ingresso ao doutorado, estando sempre presente e me incentivando nos momentos mais difíceis que passei antes e durante este, e até em algumas horas sendo a mãe que é: paciente, atenciosa, companheira e acima de tudo uma vencedora.

Mais uma vez agradeço a Dra. Mirian A. C. Crapez por ter me apresentando ao Dr. Alberto Garcia de Figueiredo Junior, um grande pesquisador, o qual sempre soube apoiar este trabalho, um pouco fora de sua linha de pesquisa, mas com muita sabedoria soube administrar e orientar-me pelas dificuldades encontradas.

A minha esposa Christiane Ragazi Fraga Fontana, que me ajudou a ter consciência e sempre esteve ao meu lado quando precisei.

As minhas filhas Bhrenda Fraga Fontana e Bianca Fraga Fontana, meus pontos de equilíbrio, pois sem elas seria muito difícil ter uma convicção para se chegar até aqui.

Às minhas “irmãs” Manuela Fontana Alves e Gabrielle Fontana Góis de Oliveira que desde minha opção profissional estiveram ao meu lado no que fosse preciso e nunca deixaram que desviasse desse caminho.

Ao meu sogro Walter Fraga e minha sogra Maria de Fátima Ragazi Fraga que são símbolo de luta, coragem e vitória na vida.

Aos meus cunhados (as) Carlos Victório Ragazi Fraga, Kelly Ragazi Fraga e Ursula Ragazi Fraga, pois são como irmãos para mim e assim torcem pela minha vitória.

Ao meu cunhado Luciano Sandora Alves o qual acompanhando todo meu trajeto de dificuldades e alegrias, esteve ao meu lado.

A Natascha Krepsky, uma amiga que desde o começo manteve contato e assim me ensinou em vários momentos a ter calma e a escolher os vários caminhos para se completar essa jornada da minha vida.

Aos amigos Lázaro Luiz Mattos Laut, Frederico Sobrinho da Silva e Joana Noronha que quando precisei aliviar um pouco da pressão estiveram dispostos a aturar o desabafo e a tomar “umas” cervejinhas.

A equipe de laboratório da micromar Daniela da Costa Pereira, Luciana Chequer, Leandro Guerra, Fernanda Sarvegnini, José Augusto Bitencourt, que desde o início do trabalho estiveram juntos, prontos a ajudar como uma equipe de futuro.

Aos alunos do Prof Alberto, Fabiano, Sérgio e Ricardo que sempre me apoiaram e ajudaram nos mapas obtidos.

Ao Profº João Baptista e sua equipe do Laboratório de Agrimensura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo levantamento topográfico da área de estudo.

A todos professores do curso que contribuíram para minha formação e estiveram sempre com as portas abertas.

Ao André Ferrari que sempre apoiou e colaborou para o bom andamento desse trabalho.

As secretárias do LAGEMAR, Jenny, Eneida e Cléa, pois sempre atenciosas e pacientes foram capazes de aturar a correria do meu dia a dia.

Em especial ao Prof. Dr. Annibal Duarte Pereira Neto, o qual após ser apresentado pela Dra. Mirian A. C. Crapez me ensinou com muita paciência a trabalhar com química analítica, nas análises de hidrocarbonetos e em nenhum momento me deixou desviar do caminho traçado.

E é claro aos amigos que fiz nesse novo caminho pela química analítica: Luiz Fernando, Carlos Edurado, João Vitor, Mariana, Vanessa, Soraya, Nicolle, Rodrigo. E em particular ao Daniel Brum, Natália Guimarães, Camila e Angelo Morgado que colaboram vigorosamente com essa tese, e sem eles dificilmente chegaria ao final dessa caminhada.

A Agência Nacional do Petróleo ANP/PrH11 por ter financiado o meu curso e assim ajudado a finalizar este trabalho.

E a VIDA, pois sem esta não existiria nenhum de nós.....



## ÍNDICE

RESUMO .....	15
ABSTRACT .....	16
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO .....	17
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS .....	20
2.1. Objetivo geral .....	20
CAPÍTULO 3 – MANGUEZAIS .....	21
3.1. Características dos manguezais .....	21
3.2. Zonação .....	23
3.3. Flora dos manguezais.....	25
3.4. Fauna dos manguezais .....	28
3.5. Deposição e sedimentação em manguezais .....	29
3.6. Sensibilidade dos manguezais .....	31
CAPÍTULO 4 - HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO .....	34
4.1. Características físico-químicas e reatividade dos hpas.....	35
4.2. Principais fontes emissoras.....	39
4.3. HPAs em compartimentos ambientais.....	42
4.4. Efeitos tóxicos e carcinogênicos dos hpas.....	46
4.5. HPAs em sedimentos .....	52
4.6. Biodisponibilidade de poluentes em sedimentos.....	52
4.7. Contaminação dos sedimentos de manguezais por óleo.....	62

4.8. Conseqüências adversas na fauna e flora decorrentes da presença do óleo em manguezais.....	69
CAPÍTULO 5 - ÁREA DE ESTUDO .....	72
5.1. Manguezal de Surui .....	72
CAPÍTULO 6 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	75
6.1. Coleta das amostras de sedimentos superficiais.....	75
6.2. Coleta dos testemunhos .....	76
6.3. Topografia.....	77
6.4. Parâmetros microbiológicos .....	78
6.4.1. Atividade das enzimas esterases (este).....	78
6.4.1.1. Fundamentação teórica .....	78
6.4.1.2. Procedimento .....	79
6.4.2. Atividade do sistema transportador de elétrons.....	80
6.4.2.1. Fundamentação teórica .....	80
6.4.2.2. Procedimento .....	81
6.4.3. Determinação do número de células bacterianas e carbono bacteriano (COB) .....	82
6.4.4. Respiração bacteriana .....	84
6.5. Análise granulométrica (sedimentos superficiais).....	86
6.6. Análise granulométrica (sedimentos dos testemunhos) .....	87
6.7. Matéria orgânica .....	87
6.8. Quantificação dos biopolímeros .....	87
6.8.1. Quantificação de proteínas .....	88

6.8.2. Quantificação de carboidratos .....	88
6.8.3. Quantificação de lipídios .....	89
6.8.4. Carbono biopolimérico e carbono detrítico .....	90
6.9. Análise de hidrocarbonetos aromáticos (sedimentos superficiais).....	91
6.10. Desenvolvimento de metodologia para análise de hidrocarbonetos aromáticos em sedimentos de mangue (testemunhos).....	92
6.10.1. Desenvolvimento do método de detecção em janela.....	92
6.10.2. Reagentes, solventes e padrões.....	94
6.10.2.1. Instrumentos e materiais .....	95
6.10.3. Métodos.....	95
6.10.3.1. Metodologia utilizada .....	95
6.10.3.2. Amostragem e armazenagem.....	95
6.10.3.3. Extração .....	96
6.10.3.4. Análise cromatográfica .....	97
6.10.3.5. Otimização da separação de hpas .....	98
6.10.3.6. Construção de curvas analíticas.....	99
6.10.3.7. Limites de detecção e quantificação .....	100
6.10.3.8. Avaliação da recuperação do método .....	102
CAPÍTULO 7 – RESULTADOS.....	104
7.1. Superficial distribution of aromatic substances and geomicrobiology of sediments from suruí mangrove, Guanabara Bay, RJ, Brazil.....	105
7.2. Characterization of microbiological activity and distribution of pahs in sediments of suruí mangrove from, Guanabara Bay, RJ, Brazil .....	142

7.3. Characterization and Distribution of PAHs in Sediments of Suruí Mangrove, Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil .....	160
8. CONCLUSÃO .....	179
9. REFERÊNCIAS.....	182
10. ANEXOS. ....	206

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa da distribuição das refinairas brasileiras e distribuição dos manguezais .....	17
Figura 2 – Manguezal de Suruí durante maré cheia .....	21
Figura 3 - Esquema da zonação horizontal no entremarés de litorais tropicais de baixa energia. ....	24
Figura 4 – Adaptações das plantas de mangue. ....	25
Figura 5 – Raízes escora. ....	26
Figura 6 – Pneumatóforos.....	27
Figura 7 – Caranguejo no Manguezal de Suruí. ....	29
Figura 8 - Estrutura dos 16 HPAs prioritários da U.S. Environmental Protection Agency.....	35
Figura 9 - Mecanismos de transporte e distribuição dos HPAs.....	45
Figura 10 - Fontes de emissão de HPAs para a atmosfera. ....	46
Figura 11 - Mecanismo de eliminação/ativação metabólica do B(a)P. ....	48
Figura 12 - Representação esquemática do BaP.....	48
Figura 13 – Exemplo de Associação e Dissociação .....	57
Figura 14 – Mecanismos de retenção de ions .....	58
Figura 15 – Representação esquemática do transporte de metal.....	60
Figura 16 – Localização das amostras superficiais ao longo do Manguezal de Suruí. ....	75
Figura 17 – Localização dos Testemunhos ao longo do Manguezal de Suruí. ....	77

Figura 18 – Meios de cultura em tubo de ensaio rosqueado..	85
Figura 19 - Resultado em meio de cultura para o processo de desnitrificação .....	85
Figura 20 - Resultado em meio de cultura para o processo de sulfato redução .....	86
Figura 21 - Resultado em meio de cultura para o processo de fermentação.. .....	86
Figura 22 - Cromatograma de uma solução padrão.....	94

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Índice de sensibilidade ambiental.....	33
Tabela 2 - Constantes físico-químicas de alguns HPAs.....	36
Tabela 3 - Níveis de HPAs .....	45
Tabela 4 - Classificação de HPAs .....	50
Tabela 5 – Efeitos do óleo no manguezal.....	70
Tabela 6 - Coordenadas e comprimento dos testemunhos. ....	77
Tabela 7 – Programação do detector de fluorescência .....	93
Tabela 8 - Solventes utilizados neste trabalho.....	95
Tabela 9 - Materiais e instrumentos utilizados.....	95
Tabela 10 - Gradiente de eluição utilizado na separação dos HPAs. ....	99
Tabela 11 - Parâmetros das curvas analíticas dos HPAs.....	100
Tabela 12 - Limites de detecção e quantificação para os HPAs.....	102
Tabela 13 - Resultados da recuperação dos HPAs. ....	103
Tabela 14 – Coordenadas, sedimentos amostrados, condutividade e características visuais.....	104

## RESUMO

HPAs, análises microbiológicas, topografia e biopolímeros foram determinados em sedimentos coletados no Manguezal de Suruí, Baía de Guanabara, Rio de Janeiro (Brasil). Foram coletadas 23 amostras superficiais em julho de 2005 e 4 testemunhos em 2008. A topografia do Manguezal de Suruí apresentou uma rampa suave a partir da margem da Baía de Guanabara, a qual facilita entrada da maré e ondas de tempestade que revolvem o sedimento criando cristas de arenosas (*chernies*) nas porções mais altas. Por vezes as areias são espalhadas pelo manguezal e ao centro do manguezal podemos observar um local de deposição tanto de sedimentos finos como de substâncias carregadas pela maré. A granulometria das amostras superficiais determinou uma maior quantidade de grãos arenosos, cerca de 50%-80% e silte de 20% - 50%. Este tipo de grão favorece a atenuação natural de hidrocarbonetos que se apresentaram em todas as amostras, mas devido à quantidade de matéria orgânica cerca de 10%, rica em biopolímeros (carboidratos 398-1760 µg/g, proteínas 118-824 µg/g e lipídios 12.4-154 µg/g) esses compostos se depositaram nos sedimentos, tanto de superfície como os profundos. A presença de substâncias como o fenol (146 µg/g) indicam maior quantidade de descargas terrestres, tanto industriais como comerciais e residenciais, sendo estas consideradas as principais fontes de traços orgânicos em ambientes marinhos. Apesar da maior presença dos grãos de areia que facilitariam a atenuação de compostos orgânicos, o Manguezal de Suruí apresentou altas concentrações de compostos aromáticos (ΣBTX 209 µg/g e ΣHPAs 1093 µg/g) com distribuição em manchas, mas devido as altas concentrações de matéria orgânica e biopolímeros, houve o sequestro e conservação dessas substâncias aromáticas nos compartimentos sedimentares, tanto verticalmente como horizontalmente. O ambiente sedimentar anóxico facilita a hidrólise dos biopolímeros por bactérias anaeróbicas, que foi confirmada pela alta atividade enzimática das esterases (1.35- 6.52 µg de fluoresceína/h/g) e a menor atividade do sistema transportador de elétrons (0.0014 – 0.62 µl O<sub>2</sub>/h/g). Apesar desse tipo de processo ser menos eficiente que os processos aeróbicos, este é reponsável pela maior parte dos ciclos biogeoquímicos na Baía de Guanabara. Os testemunhos também apresentaram altas concentrações de matéria orgânica (0.8 – 4 %), biopolímeros (carboidrato 113.3-311.1 µg/g, proteínas 113.5-403.1 µg/g e lipídios 11.5-99.1 µg/g) e HPAs (4.3-808.2 µg/g). Os manguezais são ambientes altamente vulneráveis ao impacto por óleo e possuem grande importância na manutenção da faixa litorânea e também como berçário de diversas espécies. Compostos orgânicos como os hidrocarbonetos de petróleo no manguezal de Suruí não são lavados pela maré nem atenuados naturalmente, pois além da matéria orgânica, a topografia quase plana e a disposição da vegetação favorecem o seqüestro dessas substâncias. Comparando nossos resultados com os padrões globais de distribuição de hidrocarbonetos de petróleo, as concentrações nos sedimentos superficiais e profundos do Manguezal de Suruí podem ser classificadas de moderadas a alta, sendo considerada uma área altamente impactada por incidentes contínuos e descargas industriais e também pelo transporte de poluentes orgânicos na Baía de Guanabara.



## ABSTRACT

Microbiological analyses, HPAs, topography and biopolymers had been determined in sediments collected in the Suruí Mangrove, Guanabara Bay, Rio de Janeiro (Brazil). 23 superficial samples in July of 2005 had been collected and 4 cores in 2008. The topography of the Suruí Mangrove presented a soft slope from the edge of the Guanabara Bay, which facilitates entered of the tide and storm waves that dig the sediment creating arenaceous crest (chernies) in the portions highest. By times the sands are spread by the mangrove and to the center of the mangrove we can in such a way observe a place of deposition of fine sediments as of substances carried for the tide. The grain sized analysis of the surficial sediments determined a bigger amount of arenaceous grains of the 50%-80% and 20% - 50% of silt. This type of grain favors the natural attenuation of hydrocarbons, but due to amount of organic matter (10%), and biopolymers (carbohydrates 398-1760  $\mu\text{g/g}$ , proteins 118-824  $\mu\text{g/g}$  and lipids 12.4-154  $\mu\text{g/g}$ ) these composites if had deposited in the sediments, as much of surface as the deep ones. The organic substance presented high concentrations. The standard and distribution in spots, associates the granulometry, are typical of this environment. The presence of substances as phenol (146  $\mu\text{g/g}$ ) indicates greater amount of terrestrial discharges, in such a way industrials as commercial and residential, being these considered the main sources of organic traces in marine environments. Although the biggest presence of the sand grains that would facilitate the organic composite attenuation, the Suruí Mangrove presented high aromatics compounds concentrations ( $\Sigma\text{BTX}$  209  $\mu\text{g/g}$  and  $\Sigma\text{HPAs}$  1093  $\mu\text{g/g}$ ) with distribution in spots, but had the high concentrations of organic substance and biopolymers, had the sequestration and conservation of these aromatic compounds in the sedimentary compartments, in such a way vertically as horizontally. The anoxic environment sedimentary facilitates the hydrolysis of the biopolymers for anaerobics bacteria that was confirmed by the high enzymatic activity of esterases (1.35-6.52  $\mu\text{g}$  of fluoresceína/h/g) and the lesser activity of the transporting electron system (0.0014–0.62  $\mu\text{l O}_2\text{/h/g}$ ). Although this type of process to be less efficient than the aerobics processes, this is reponsible mostly of the biogeoquimics cycles in the Guanabara Bay. The cores between high concentrations of the organic matter (0.8 – 4 %), biopolymers (carbohydrates 113.3-311.1  $\mu\text{g/g}$ , proteins 113.5-403.1  $\mu\text{g/g}$  e lipids 11.5-99.1  $\mu\text{g/g}$ ) e PAHs (4.3-808.2  $\mu\text{g/g}$ ) The mangroves are surrounding highly vulnerable to the impact for oil and also possess great importance in the maintenance of the littoral band and as nursery of diverse species. Organic composites as the hydro-carbons of oil in the Suruí Mangrove are not washed by the tide nor attenuated of course; therefore beyond the organic substance, the almost plain topography and the disposal of the vegetation they favor the kidnapping of these substances. Comparing our results with the global standards of distribution of oil hydrocarbons, the concentrations in the superficial and deep sediments of the Suruí Mangrove can be classified of moderate the high one, being consideranda an area highly impactada by continuous incidents and industrial discharges and also by the transport of organic pollutants in the Guanabara Bay.

## Capítulo 1

### INTRODUÇÃO

O aumento da atividade humana próxima as linhas costeiras (Fig. 1) causam sérios problemas de poluição. Ecossistemas de mangue, comumente encontrados em zonas entremarés de regiões tropicais e subtropicais, são frequentemente sujeitos ao stress da poluição e são considerados depósitos de vários poluentes (Tam and Wong 1999; Zheng *et al.* 2000).

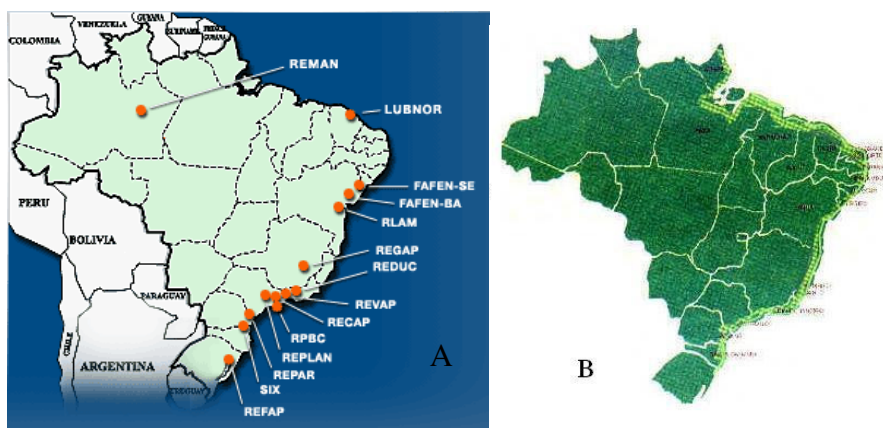


Figura 1 - Mapa da distribuição das (A) Refinarias brasileiras (Petrobrás) e (B) distribuição dos manguezais no território Brasileiro (em amarelo).

O efeito de grandes derrames tem sido estudado em diferentes níveis, de ecossistemas inteiro até processos fisio-metabólicos mais específicos. Tem sido observado que danos biológicos em organismos aquáticos são uma da persistência espaço-temporal, biodisponibilidade de hidrocarbonetos, a habilidade de cada grupo se acumular no ambiente e a capacidade dos contaminantes interferirem no metabolismo de organismos e comunidades (GESAMP 1993).

Hidrocarbonetos poliaromáticos são uma importante classe de poluentes orgânicos e são ubíquos no ambiente (Pereira Netto *et al.* 2000).

Por causa das propriedades carcinogênicas de alguns compostos, estes têm atraído muitos estudos (Ohkouchi *et al.* 1999; Zakaria *et al.* 2002; Mai *et al.* 2003; Kannan *et al.* 2005). HPAs são introduzidos no ambiente aquático através de derrames acidentais, descarga industriais (municipais e urbanas), precipitação atmosférica drenagem superficial etc. Nos ecossistemas HPAs, devido a sua estrutura hidrofóbica absorvem-se preferencialmente nos sedimentos.

Contato de organismos com as frações tóxicas do óleo podem levar a morte por intoxicação, especialmente associados a frações de hidrocarbonetos monoaromáticos. Os compostos mais tóxicos são benzeno, tolueno and xilenos. Estas substâncias são consideradas solúveis em água (especialmente benzene), o que torna os organismos marinhos mais vulneráveis, assim estes podem absorver esses compostos, através dos tecidos, guelras ou por ingestão direta de água ou por contaminação dos alimentos. Estes hidrocarbonetos apresentam efeitos tóxicos agudos intensos, especialmente devido a alta solubilidade que resultam na biodisponibilidade (GESAMP 1993).

Entre os hidrocarbonetos monoaromáticos, Benzeno é o mais danoso, com propriedades carcinogênicas bem conhecidas, sendo estas classificadas ao humanos (IARC 2007). Os outros hidrocarbonetos monoaromáticos (tolueno, xileno and ethilbenzeno) são menos tóxicos (IPCS 1996, 1997), mas estes concernem odor e gosto a água em altas concentrações (Day *et al.* 2001)

BTXs (chamados os benzeno, tolueno and xileno) frequentemente matam o meroplâncton, ictioplâncton ou outros estágios de vida dos organismos presentes na coluna de água, em concentrações menores que 5mg/l. Em adição, a ação tóxica dos hidrocarbonetos de petróleo e outros

compostos químicos, a poluição do óleo pode fisicamente sufocar organismos marinhos (Kennish 1997).

A maior parte dos compostos combustíveis são de interesse devido seus efeitos toxicológicos. Este é o caso do HPAs e BTX que são estudados em vários meios como ar, água, solo e sedimento (IPCS 1998; Menchini *et al.* 1999; Monod *et al.* 2001; Pereira Netto *et al.* 2002, 2004; Rego and Pereira Netto, 2007).

Manguezais são ricos em polifenóis e taninos (Kathiresan and Ravi 1990; Ravi and Kathiresan 1990; Achmadi *et al.* 1994). Assim como os aspectos químicos, presença de grupos funcionais como carboxilas e hidroxilas fenólicas fazem as substâncias húmicas (HS) que possuem um papel polieletrólítico e agem como agentes complexantes de íons metálicos (Saar and Weber 1982; Alloway 1990).

As características intrínsecas de manguezais, tais como alto conteúdo de matéria orgânica e sulfetos, as condições anóxicas das camadas sedimentares superficiais, o ambiente de baixa energia e o fluxo de corrente reduzido, favorecem a deposição e acumulação de contaminantes. Altas concentrações de metais pesados, PCBs e HPAs tem sido registrados em sedimentos de manguezais os quais persistem por vários anos (Tam and Wong 1999, 2000; Tam and Yao 2002; Zheng *et al.* 2002).

## Capítulo 2

### **OBJETIVOS**

#### **2.1. OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho tem o objetivo de analisar a distribuição horizontal e vertical de hidrocarbonetos poli e mono aromáticos no sedimento do manguezal de Suruí, Baía de Guanabara, empregando técnicas sedimentológicas junto às microbiológicas para avaliação de ambientes impactados por hidrocarbonetos, verificando os possíveis reservatórios e a atividade bacteriana do manguezal.

## Capítulo 3

### MANGUEZAIS

#### 3.1. CARACTERÍSTICAS DOS MANGUEZAIS

O manguezal desenvolve-se em zonas litorâneas associadas a cursos d'água, em áreas encharcadas, salobras e calmas, com influência das marés, porém, sem serem atingidos pela ação direta das ondas. Este ecossistema é o elo entre os ambientes marinho, terrestre e fluvial, caracterizando-se por uma constante conquista de novas áreas devido ao acúmulo de grandes massas de sedimento e detritos trazidos pelos rios e pelo mar (Fig. 2) (Schaeffer-Novelli 1995).



Figura 2 – Manguezal de Suruí durante maré cheia (Foto tirada em 28-04-2006).

O escoamento dos rios é alternadamente represado ou liberado pela energia das marés, e em consequência disso, são criadas zonas de águas salobras periodicamente calmas, onde são depositados sedimentos finos.

Assim, surgem ambientes com flora e fauna especializadas, devido aos sedimentos lodosos (Schaeffer-Novelli 1995).

Os manguezais são geralmente sistemas jovens que, seguindo a dinâmica das marés nas áreas onde se localizam, produzem a modificação da topografia dos terrenos, resultando em uma seqüência de recuos e avanços da cobertura vegetal. A enchente e a vazante das marés possibilitam a movimentação de partículas em consideráveis distâncias, proporcionando a reciclagem dos nutrientes e dos materiais orgânicos, com posterior acúmulo. A amplitude vertical da maré determina a profundidade de inundações e extensão vertical da vegetação, o ciclo de maré controla a freqüência e duração da mare e a qualidade da água (Schaeffer-Novelli 1995).

Os nutrientes carreados pelos rios, marés, chuvas (lavagem das folhas) e runoff da zona circunvizinha, são distribuídos sobre o sedimento do manguezal e assim retirados por processos físicos e fisiológicos, incorporando-se aos sedimentos e/ou sendo absorvidos pelo metabolismo vegetal (Schaeffer-Novelli 1995).

Esses ambientes são considerados os mais produtivos do mundo e são também chamados de “berçário”, por abrigarem inúmeras espécies de animais no período de reprodução. Segundo Carmo *et al.* (1994) a fauna do mangue é composta por espécies residentes e visitantes. Observam-se baixa diversidade e grande quantidade de animais.

Atualmente, a ênfase dos estudos focaliza os manguezais como um ecossistema dinâmico de grande importância ecológica e geomorfológica no contexto regional das zonas estuarinas. Segundo Lugo e Snedaker (1974) o manguezal é um ecossistema aberto no que diz respeito à energia e matéria.

Existem três características que demonstram o valor do manguezal:

- 1- exportam grandes quantidades de nutrientes (matéria orgânica de origem detrítica) para as água do estuário;
- 2- fixam os sedimentos evitando erosão da costa;
- 3- fornecem hábitat para populações de valor comercial (peixes, crustáceos e moluscos).

Segundo Cintron e Schaeffer-Novelli (1992), há cinco requisitos básicos para o desenvolvimento extensivo de manguezal:

- Temperaturas tropicais: temperatura média do mês mais frio, acima de 20°C;
- Aluvião fino-particulado: substrato mole constituído por silte e argilas finas, ricas em matéria orgânica;
- Costas livres de forte ação de vagas e marés violentas;
- Água salgada (os mangues são halófitos facultativos, que ocupam as zonas que sofrem as influências das marés, onde as plantas de água doce não conseguem tolerar a salinidade);
- Larga amplitude de marés.

### **3.2. ZONAÇÃO**

A literatura ecológica sobre manguezais é mais extensiva quanto à composição florística e zonação vegetal. As diferentes espécies vegetais de mangue estão distribuídas em zonas, em relação à linha d'água. Essa delimitação de zonas sucessivas, monoespecíficas, tem tido sucesso onde há um gradiente topográfico bastante íngreme. A distribuição das espécies de um dado local pode ser totalmente diferente daquela encontrada para as mesmas espécies, em uma região adjacente; a zonação é variável nos manguezais, devido às peculiaridades ambientais locais (Fig. 3) (Schaeffer-Novelli 1995).



Dunsereau (1948) foi o primeiro a dar definição fisionômica às restingas do Estado do Rio de Janeiro e do antigo Distrito Federal, incluindo informações sobre o manguezal e classificando os estágios da sucessão. A zonação que ele propôs para a vegetação do substrato argiloso foi seguida por muitos autores, inclusive Lamberti (1969), Odum (1971) e Schaeffer-Novelli (1995).

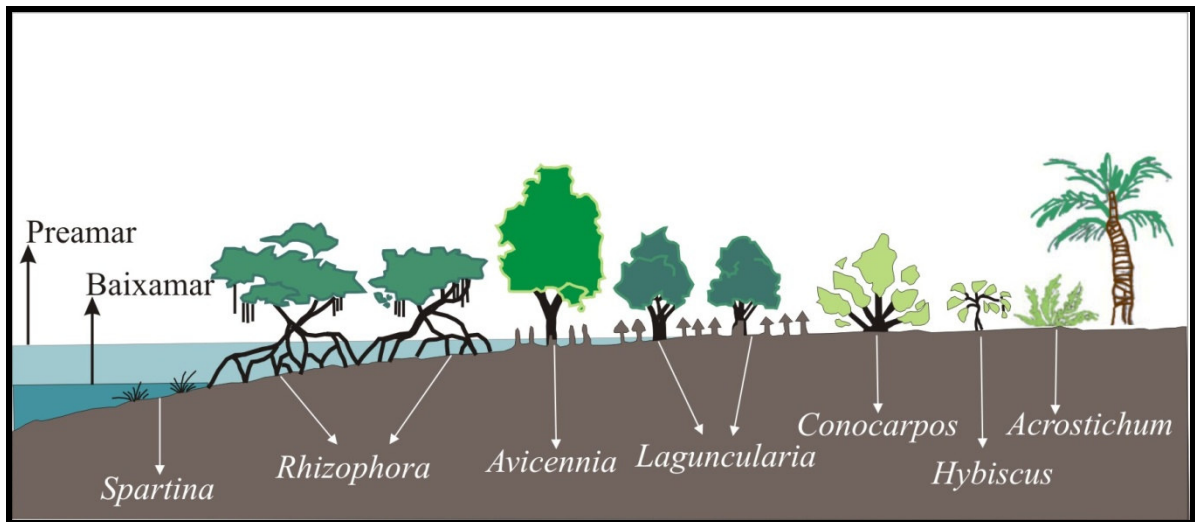


Figura 3 - Esquema da zonation horizontal no entremarés de litorais tropicais de baixa energia (Shaeffer-Novelli 1995).

Em seu esquema, indivíduos de *Rhizophora* ocupam a faixa vizinha da água (lagoa, mar), em sedimento coloidal inconsistente. Esses indivíduos podem ocupar esses locais, porque seus rizóforos conferem resistência à alta energia e ao sedimento lamoso, sem serem arrancados. Na zona seguinte, a *Avicennia* domina, em sedimento que contém maior percentagem de areia e cascalho, sendo assim mais firme. A terceira zona é constituída por *Laguncularia*, que pode estar ausente, ocorrendo também em sedimentos arenosos. *Laguncularia* e *Avicennia* ocupam locais mais afastados dos rios e do mar, locais mais protegidos das ondas e da força dos rios.

Outra forma de se explicar a zonação é através da adaptação dos propágulos. No caso da *Rhizophora*, pelo fato de possuir propágulos maiores e mais pesados, alcançam o substrato mesmo na maré cheia. Já as outras duas espécies possuem propágulos menores e leves, fixando apenas em locais que fiquem períodos prolongados sem ser atingidos pelas marés (Schaeffer-Novelli 1995).

### 3.3. FLORA DOS MANGUEZAIS

Sendo o manguezal uma formação que oferece um ambiente hostil à maioria das plantas (devido à alta salinidade da água e do sedimento, níveis de oxigênio baixos e frequência de inundação, etc.), as espécies vegetais destas áreas possuem adaptações especiais para sobreviver, como, por exemplo, fixação mecânica em sedimento frouxo, raízes respiratórias e mecanismos de aeração, viviparidade. (Fig. 4) (Schaeffer-Novelli 1995).



Figura 4 – Exemplos de adaptações das plantas de mangue: lenticelas (A), raízes aéreas (B) e pneumatóforos (C).

O efeito principal da alta salinidade em longo prazo é que ela promove uma acumulação excessiva de íons. Uma das maneiras em que as halófitas se adaptam e conseguem um funcionamento metabólico normal é através da *extrusão de íons*. Esse processo é feito nas glândulas epidérmicas

que exudam grande quantidade de sal, com sua cristalização sobre a superfície da folha. Outra forma é através do aumento da succulência (Schaeffer-Novelli 1995).

Como os sedimentos têm pouca aeração, ligada ao sedimento fino lamoso, escuro, riqueza em bactérias anaeróbias, local de processos ativos de decomposição e freqüentes inundações, a aeração das raízes é realizada por partes superficiais (Lacerda, 1998).

A *Rhizophora* produz dois tipos de raízes, o primeiro é constituído pelas raízes aéreas, procedentes do caule principal, arqueadas até o sedimento, também chamadas de raízes escoras (Fig. 5). A função principal dessas raízes é a ventilação da árvore inteira e, especialmente, das raízes subterrâneas, através das lenticelas. O segundo tipo é o das subterrâneas, que surgem das raízes escoras e funcionam na absorção de água e nutrientes (Lacerda, 1984).



Figura 5 – Exemplos de raízes escoras, cujos prolongamentos são chamadas de raízes subterrâneas (Tirada em. 26/01/06, Manguezal de Surui).

O geotropismo negativo exibido pelas raízes radiais da *Avicennia* e a presença de pneumatóforos, são formas encontradas para oxigenar as raízes. Também o tecido cortical contém muitos espaços intercelulares que armazenam grandes quantidades de ar (Lamberti 1969).

A *Laguncularia* também possui o sistema de respiração por meio de pneumatóforos (Fig. 6). A ligação entre os pneumatóforos e as raízes radiais permite uma troca de gases, tanto que quando a maré cobre por completo os pneumatóforos, há um decréscimo no conteúdo de oxigênio do sistema radicular inteiro (Lacerda, 1998).



Figura 6 – Exemplos de pneumatóforos, desenvolvidos a partir das raízes radiais.

A viviparidade é a proteção dos embriões contra o meio salino, apresentando o zigoto um desenvolvimento contínuo até formar um novo rebento antes de desprender-se da planta-mãe. Os propágulos da *Rhizophora*

têm forma de grandes hipocórdilos, possuindo uma vida bastante longa. A queda ocasiona a separação do cotilédone, sua fixação ao substrato pode partir de uma posição vertical ou horizontal. Já os propágulos de *Avicennia* são leves, possuindo um grande poder de flutuação. Após a separação ficam expostos devido à perda do pericarpo coriáceo, o hipocótilo se alonga e as raízes começam a crescer. Na *Laguncularia* os propágulos são pequenos, o pericarpo serve como bóia e não se desprende até o enraizamento (Schaeffer-Novelli, 1995).

### **3.4. FAUNA DOS MANGUEZAIS**

Em toda sua extensão o manguezal é habitado por diferentes formas de vida, desde seres microscópicos até grandes peixes, aves, répteis e mamíferos. Alguns deles, nem sempre exclusivos dos manguezais, ocupam o sedimento e a água, outros raízes e troncos, chegando até à copa das árvores, espaço disputado principalmente à noite (Schaeffer-Novelli, 1995).

A fauna pode ser dividida em dois grupos. O primeiro é constituído de animais marinhos que vivem toda sua fase adulta nos mangues, como os moluscos e crustáceos. Entre os crustáceos estão os caranguejos arborícolas como “o marinheiro” *Aratus pisoni* (Fig. 7), que passa toda sua fase adulta nas árvores, raramente desce ao sedimento e alimenta-se de folhas e polpa e das algas que colonizam os troncos e raízes. Outro componente são as ostras que vivem fixas a troncos e raízes aéreas, formando imensas populações. Um segundo grupo é constituído por vários animais que se utilizam do mangue durante a fase juvenil ou vários peixes que invadem os manguezais na maré alta. Diversas espécies de aves marinhas e terrestres encontram nos mangues uma das poucas áreas íntegras no litoral para refúgio, alimentação

e reprodução. Neste grupo também se encontram mamíferos que freqüentam o mangue, principalmente à noite, em busca de alimentação (Lacerda 1984).



Figura 7 – Foto de caranguejo (*Aratus pisoni*) no Manguezal de Suruí.

Outra forma de vida de interesse econômico que habita os manguezais é o camarão. Ele possui um ciclo de vida interessante, onde a nova geração, nascida dos adultos que vivem em mar aberto, migra para o manguezal, onde permanece durante a fase de crescimento, passando de larvas a jovens, quando iniciam sua viagem de volta ao oceano. O pitu brasileiro e o camarão gigante da Malásia, que vivem em água doce, desovam no manguezal, onde os “filhotes” passam seus primeiros estágios de vida, retornando depois para os rios (Lacerda, 1984).

### **3.5. DEPOSIÇÃO E SEDIMENTAÇÃO EM MANGUEZAIS**

Os ambientes estuarinos entremáres estão sujeitos à mudanças contínuas: erosão, deposição e consolidação dos sedimentos são reguladas por atividades sazonais e episódicas, relacionadas à descarga de água doce, ação da maré e ação dos ventos (Saad *et al.* 1999).

Em geral, as comunidades de plantas de manguezais seguem o movimento da linha de costa. Forças erosivas levam a perda destas plantas e processos deposicionais permitem a expansão em direção ao mar. Várias atividades na captação de água dos estuários aumentam a intensidade de deslizamento ou aumentam a carga de sedimentos os quais possuem efeitos *downstream* dos ecossistemas de manguezais (Saad *et al.* 1999).

O efeito da erosão é prontamente entendido, contudo os processos associados com a deposição são mais complexos. As taxas de deposição dos sedimentos em zonas entremarés dependem da:

- 1- velocidade da corrente do corpo d'água;
- 2- carga de sedimento;
- 3- salinidade e temperatura da água.

Cada um desses fatores é sujeito a mudanças sazonais. A velocidade de corrente é dependente da amplitude de maré e o fornecimento de água doce. A intensidade de água das chuvas e os padrões de uso da terra influenciariam a quantidade de sedimentos carreados no *runoff* (drenagem natural do sedimento). Na interface entre água salina e água doce, floculação de sedimentos ocorre, acarretando o aumento na deposição. A posição no estuário onde ocorre a floculação depende da distância da penetração da maré (Saad *et al.* 1999).

A sedimentação possui vários efeitos. O efeito diretamente positivo é a acumulação do substrato para um nível topográfico no qual a colonização das plantas de mangue é facilitada. Este processo sendo contínuo ocasionará a expansão da linha de costa. Efeitos negativos também podem ocorrer, quando a espessura dos sedimentos aumenta pela estabilização, as plantas sofrem com a diminuição de oxigênio nas raízes. Esta diminuição no

oxigênio ocorre onde a sedimentação diminui a drenagem, resultando na morte de plantas adultas (Saad *et al.* 1999).

As diferenças entre os teores de argila e silte nas camadas superficiais podem indicar uma mudança no regime de sedimentação no manguezal, com uma menor energia de transporte nas deposições dos sedimentos nas camadas mais recentes. Esses tipos de dados granulométricos sugerem que o manguezal possui uma topografia dinâmica. A dinâmica pode ter influência da vegetação no revolvimento do sedimento (exposição das raízes) e etc, aliado ao transporte de partículas pelo fluxo de maré que remove as partículas em suspensão (Saad *et al.* 1999).

Tanto a estabilidade do sedimento como suprimento adequado de água doce e de nutrientes são fatores de fundamental importância no funcionamento dos ecossistemas de manguezais (Lacerda 1984).

Devido ao ambiente de inundação, ambiente redutor, a decomposição da matéria orgânica ocorre por meio de microrganismos anaeróbicos (Crapez *et al.* 2003).

### **3.6. SENSIBILIDADE DOS MANGUEZAIS**

O sistema de classificação de sensibilidade é baseado no conhecimento das características geomorfológicas das áreas do litoral, considerando os seguintes fatores:

- o grau de exposição à energia de ondas e marés;
- declividade do litoral;
- tipo do substrato.

Para a classificação da sensibilidade da costa é fundamental o entendimento das inter-relações entre os processos físicos, tipos de substrato e biota associada que produzem ambientes geomorfológica e ecologicamente



específicos, assim como padrões previsíveis de comportamento do óleo, padrões de transporte de sedimentos e impactos biológicos (Noenberg and Lana 2002).

A diversidade biológica não se encontra igualmente distribuída ao longo dos diversos sistemas marinhos. Praias arenosas e lodosas constituem, por exemplo, áreas de baixa diversidade, abrigando organismos especializados, em função da ausência de superfícies disponíveis para fixação e da limitada oferta de alimentos. Costões rochosos encontram-se em posição intermediária, em relação á biodiversidade, enquanto os terrenos alagadiços, formando banhados e brejos, às margens das lagoas costeiras e rios, constituem sistemas férteis, servindo de abrigo e região de criadouro para numerosas espécies. Os manguezais e marismas apresentam elevada biodiversidade estrutural e funcional, atuando, juntamente com os estuários, como exportadores de biomassa para as regiões adjacentes (Araújo *et al.* 2000).

O sistema de classificação de sensibilidade ambiental também leva em conta o alcance e tempo de permanência do poluente, o grau de exposição à energia de ondas e marés, a declividade do litoral e o tipo de substrato, afetando a sua permeabilidade e mobilidade. Considerando os elementos mencionados acima, Araújo *et al.* (2000) propuseram uma classificação de sensibilidade das feições costeiras do litoral do Brasil, de acordo com a sua sensibilidade a derrames de óleo (Tab. 1).

Tabela 1 - Índice de sensibilidade ambiental, segundo Araújo *et al.* (2000)

Índice de Sensibilidade Ambiental	Grau de Exposição a ondas	Faixa Intermarés		Substrato				Biota	Tipo de Litoral
		Inclinação	Largura	tipo	Modabilidade	Penetração do óleo	trafegabilidade		
1	Alto	> 30°	Estreita	Costão rochoso	Fixo	impermeável	Baixa	Aclimatada a altos impactos hidráulicos e pressão	Costões rochosos expostos, estruturas artificiais impermeáveis
2	Alto	> 30°	Larga	Leito rochoso	Fixo	Impermeável	Baixa	Aclimatada a altos impactos hidráulicos e pressão	Plataformas erodidas pela ação das ondas
3	-	> 5°	Larga	Areia fina a média (0,06 a 1mm)	Baixa	Semipermeável (< 10 cm)	Permite tráfego de veículos	Baixa densidade	Praias de areias finas e médias
4	-	5 - 15°	Larga	Areia grossa / grânulos (2 - 4 mm)	Alta	Permeável (≤ 25 cm)	Baixa trafegabilidade de veículos	Baixa densidade	Praias de areia e cascalho
5	-	8 - 15°	-	Areia e cascalho	Muito alta durante tempestades	≤ 50 cm	Baixa trafegabilidade de veículos	Muito baixa	Praias de areia e cascalho
6	-	10 - 20°	-	Cascalho	Baixa	Altamente permeável (≤ 100 cm)	Muito baixa trafegabilidade	Infauna e epifauna muito baixa	Praias de cascalho e enroscamento
7	Variável de alto a médio	< 3°	Estreita a muito larga	Areia	-	Penetração	Baixa	Muito baixa	Áreas intermarés planas expostas
8	Baixo	> 15°	Estreita	Leito rochoso (algum sedimento)	-	-	Baixa	Coberto de algas e microorganismos	Costões rochosos abrigados
9	Baixo	< 3°	Estreita	Lamoso	-	Baixa permeabilidade	Muito baixa	Alta densidade de infauna	Áreas intermarés plana abrigados
10	Médio a baixo	< 10°	Estreita a muito larga	Areia lamosa	Baixa	Baixa permeabilidade	Muito baixa	Vegetação associada com alta diversidade	Marismas e manguezais

## Capítulo 4

### **HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO**

Os HPAs são compostos orgânicos binários formados por carbono e hidrogênio com estrutura que consiste de pelo menos 2 anéis aromáticos, e de 5 ou 6 átomos de carbono condensados. Podem apresentar heteroátomos associados em estruturas similares, em amostras de origem ambiental como os derivados nitrados (N-HPAs) e os oxigenados (O-HPAs).

Os HPAs são classificados como apresentando núcleos isolados como as bifenilas e núcleos condensados como o naftaleno, antraceno e fenantreno (Xue e Warshawsky, 2004). Existe uma imensa variedade de HPAs no meio ambiente, grande parte deles possuindo características estruturais e propriedades muito similares, sendo comum a existência de estruturas isoméricas. Muitas vezes certos isômeros são mais carcinogênicos ou mutagênicos do que outros (Ribeiro 2001).

Devido à possibilidade da fusão de um número variável de anéis e das várias posições em que estes anéis podem se ligar entre si, há atualmente mais de 100 HPAs reconhecidos pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Porém, somente 16 HPAs (acenaftaleno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(g,h,i)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3- c,d)pireno, e pireno) são considerados pela U.S. Environmental Protection Agency em função de sua importância industrial, ambiental e toxicológica (Fig. 8), (Potin *et al.* 2004).

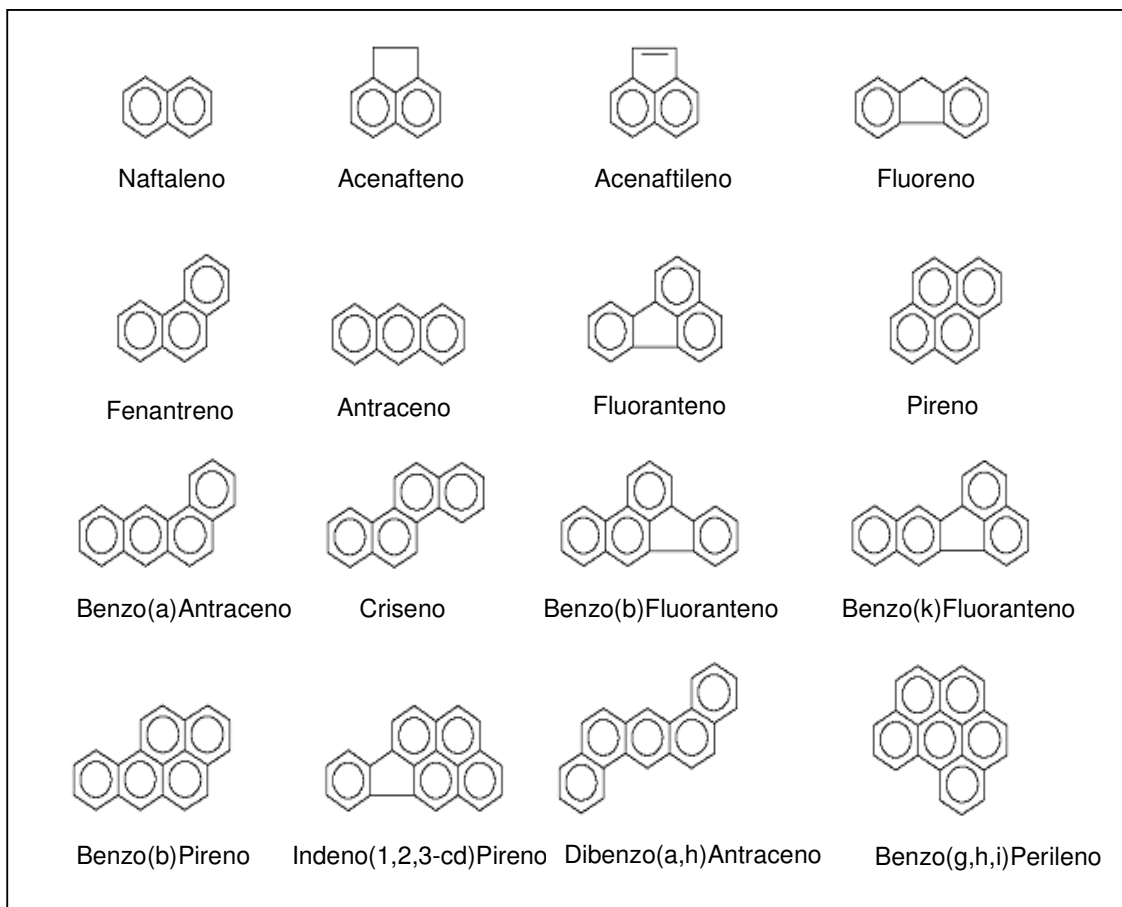


Figura 8 - Estrutura dos 16 HPAs incluídos na lista de poluentes prioritários da U.S. Environmental Protection Agency.

#### 4.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E REATIVIDADE DOS HPAS

As propriedades químicas e físico-químicas dos HPAs são, em grande parte, determinadas por seus sistemas de duplas conjugados, que variam com o número de anéis e, portanto, com suas massas moleculares. Os valores de algumas constantes físico-químicas relevantes para a compreensão do comportamento ambiental e toxicológico destes compostos são apresentados na Tabela 2 juntamente com as abreviaturas comumente utilizadas para os HPAs.

Tabela 2 - Constantes físico-químicas de alguns HPAs (Fonte: IPCS 1998).

HPA	A breviatura	Peso Molecular (u.m.a.)	Pont o de fusão (° C)	Ponto de ebulição (° C)	Pressão de vapor a 25 ° C	Coefficiente de partição octanol/água (log Kow)	Solubilidade em água a 25 ° C (ug/L)	Constante de Henry a 25 ° C (kPa)
Naftaleno	N	128,17	81	217,9	10,4	3,4	3,17.10 <sup>4</sup>	4,89.10 <sup>-2</sup>
Acenaftileno	Ac	152,2	92-93		8,9. 10 <sup>-1</sup>	4,07	-	1,14.10 <sup>-3</sup>
Acenafteno	Ace	154,21	95	279	2,9. 10 <sup>-1</sup>	3,92	3,93.10 <sup>3</sup>	1,48.10 <sup>-2</sup>
Fluoreno	Fl	166,22	115-116	295	8,0. 10 <sup>-2</sup>	4,18	1,98.10 <sup>3</sup>	1,01.10 <sup>-2</sup>
Fenantreno	Fe	178,23	100,5	340	1,6. 10 <sup>-2</sup>	4,6	1,29.10 <sup>3</sup>	3,98.10 <sup>-3</sup>
Antraceno	A	178,23	216,4	342	8,0. 10 <sup>-4</sup>	4,5	73	7,3.10 <sup>-2</sup>
Pireno	Pi	202,26	150,4	393	6,0. 10 <sup>-4</sup>	5,18	135	1,1.10 <sup>-3</sup>
Fluoranteno	Fluo	202,26	108,8	375	1,2. 10 <sup>-3</sup>	5,22	260	6,5.10 <sup>-4</sup>
Criseno	Cri	228,29	253,8	448	8,4. 10 <sup>-5</sup>	5,91	2	-
Benzo(a)antraceno	B(a)A	228,29	160,7	400	2,8. 10 <sup>-5</sup>	5,61	14	-
Benzo(e)pireno	B(e)P	252,32	178,7	493	7,4.10 <sup>-7</sup>	6,44	5,07 (23°C)	-
Benzo(b)fluoranteno	B(b)Fluo	252,32	165,4	480	2,0.10 <sup>-6</sup>	6,12	2,5 (20°C)	-
Benzo(k)fluoranteno	B(k)Fluo	252,32	215,7	480	1,3. 10 <sup>-7</sup>	6,84	0,76	4,4.10 <sup>-5</sup>
Benzo(a)pireno	B(a)P	252,32	178,1	496	7,3.10 <sup>-7</sup>	6,5	3,8	3,4.10 <sup>-5</sup> (20°C)
Dibenzo(ah)antraceno	DiBa	278,35	266,6	524	1,3. 10 <sup>-8</sup> (20°C)	6,5	0,5 (27°C)	7.10 <sup>-6</sup>
Benzo(ghi)perileno	B(ghi)	276,34	278,3	545	1,4. 10 <sup>-8</sup>	7,1	0,26	2,7.10 <sup>-5</sup> (20°C)
Indeno(1,2,3-cd)pireno	Ind	276,34	163,6	536	1,3. 10 <sup>-8</sup> (20°C)	6,58	62	2,9.10 <sup>-5</sup> (20°C)

A partir dos dados apresentados na Tabela 2, é observada algumas características gerais dos HPAs: são sólidos à temperatura ambiente, têm altos pontos de ebulição e fusão; baixa solubilidade em água; são solúveis em solventes orgânicos e altamente lipofílicos. Suas afinidades por fases orgânicas, lipofílicidade, são expressas através do coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), esses valores elevados de coeficientes de partição (entre 3,4 a 7,1) indicam que os HPAs podem ser absorvidos através de diversos tecidos biológicos, como por exemplo a pele (Pereira-Netto 1999).

A solubilidade em água diminui com o aumento do tamanho da molécula e, com exceção do naftaleno, que é relativamente solúvel (32 mg/L), os HPAs têm baixa solubilidade em água. Como resultado de seus elevados valores de coeficiente de partição entre carbono orgânico e água ( $K_{ow}$ ), em sistemas aquosos, os HPAs tendem a concentrar-se em sedimentos ou ficam associados à matéria orgânica em suspensão.

A pressão de vapor e a constante de Henry também diminuem com o aumento do peso molecular. Como reflexo desta propriedade, HPAs de 2 ou 3 anéis tendem a concentrar-se na fase gasosa do ar, os com 4 anéis distribuem-se entre as fases do ar e os com 5 anéis ou mais concentram-se principalmente no material particulado atmosférico.

HPAs são compostos relativamente inertes e suas reações mais comuns são as reações de substituição ou de adição eletrofílica. Como as reações de adição destroem a aromaticidade do sistema conjugado, diminuindo a estabilidade da molécula, elas são, muitas vezes, seguidas por reações de eliminação, que regeneram o sistema aromático e dão origem a um produto final de substituição (Costa 2001). Os produtos destas reações podem, subseqüentemente, sofrer novas transformações, inclusive abertura de anéis e dar origem a substâncias mais complexas. A presença de

substituintes doadores ou aceptores de elétrons nos anéis pode aumentar ou diminuir, respectivamente, a velocidade das reações (Pereira Netto 1999; Lopes & De Andrade 1996).

Podem apresentar átomos de oxigênio e nitrogênio em sua estrutura, participando em misturas complexas podendo ser identificadas em vários segmentos ambientais. Segundo Wania e Mackay (1996), HPAs são poluentes orgânicos persistentes, ou seja, resistem a degradação ambiental. Devido a este fator os HPAs podem acumular-se no meio ambiente atingindo concentrações que podem prejudicar a saúde, sendo o caso mais conhecido o do benzopireno, presente na queima de combustível fóssil bem como no tabaco do cigarro e que possui efeito carcinogênico comprovado, pois interage diretamente no DNA das células provocando mutações e conseqüentemente câncer (Juhász e Naidu 2000; Samanta *et al.* 2002; Bengtsson e Zerhouni 2003).

Os HPAs atmosféricos estão principalmente adsorvidos na fração fina do material particulado atmosférico, aumentando a superfície de contato e facilitando reações com substâncias em fase gasosa como O<sub>3</sub>, SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> e radicais OH presentes na atmosfera também podendo sofrer oxidação e alterações fotoquímicas (Schurath 1997; Nielsen *et al.* 1983; Finlayson-Pitts e Pitts Jr 1997; Fasnacht & Blough 2003).

As reações atmosféricas dão origem a substâncias policíclicas aromáticas de maior polaridade que os HPAs originais como nitro-HPAs (NHPAs), cetonas, quinonas, lactonas e etc.

No meio ambiente, muitos dos HPAs de 3 ou mais anéis e hétero-aromáticos são fotooxidados pois absorvem radiação na região do ultravioleta (acima de 300 nm, presente na radiação solar). Essas reações são de importante interesse porque o destino dos HPAs, assim como sua

remoção do ambiente é determinado em parte por seu comportamento fotoquímico (Fasnacht 2003; Finlayson-Pitts e Pitts Jr 1997). O tempo de meia-vida dos HPAs na atmosfera pode variar de minutos ou horas a dias (Lopes & De Andrade 1996).

HPAs também reagem com o ozônio formando diversos produtos. Durante o dia, os HPAs atmosféricos podem sofrer reações de fotólise ou reações com o radical OH e durante a noite com o radical NO<sub>3</sub> e com N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para gerar os seus derivados nitrados (NHPAs). A reação com O<sub>3</sub> pode ocorrer em ambos os períodos. Estas reações representam os processos químicos mais importantes para remoção dos HPAs da atmosfera (Pereira Netto *et al.* 2000). Porém, os produtos destas reações são, em alguns casos, mais tóxicos que os HPAs de origem.

#### **4.2. PRINCIPAIS FONTES EMISSORAS**

Os HPAs são emitidos por fontes naturais e antropogênicas. A contribuição das fontes naturais é muito limitada restringindo-se praticamente, à queima espontânea de florestas e emissões vulcânicas. Embora, HPAs também possam ser sintetizados por certas bactérias, plantas e fungos, isso ocorre raramente (Eiroa *et al.* 2000). As fontes antropogênicas representam o principal processo de produção de HPAs (Lee *et al.* 1992).

A concentração de HPAs no meio ambiente tem crescido drasticamente, sendo a queima de combustíveis fósseis a principal fonte de emissão, principalmente em veículos automotivos (Mazzera *et al.* 1999; Mastral e Callen 2000; Pisupati *et al.* 2000). Vazamentos de petróleo provocam grandes impactos ambientais localizados, porém não são os maiores responsáveis pela presença destes hidrocarbonetos na contaminação de ambientes. Segundo Apitz e colaboradores (1999), processos industriais



relacionados a combustíveis fósseis, sua exaustão e escoamento ainda depositam uma quantidade maior destes compostos no meio ambiente.

O petróleo constitui uma das fontes mais importantes de hidrocarbonetos. O petróleo é um líquido oleoso, pouco denso ( $d = 0,65$  a  $0,9 \text{ g/cm}^3$ ) e imiscível em água. Pode apresentar cor negra ou avermelhada dependendo da região de origem, sendo constituído por milhares de compostos orgânicos, com grande predominância de diversos hidrocarbonetos (Zakaria *et al.* 2002 e Stout *et al.* 2004). O petróleo tem sua origem em pequenos seres vegetais e animais da orla marítima, que foram soterrados há milhões de anos. Pela ação de microorganismos, da pressão, do calor e do tempo, essa matéria orgânica foi transformada em petróleo.

O petróleo é retirado de fontes não-renováveis, pois depois de retirado das bacias petrolíferas este não pode ser substituído. A indústria utiliza o petróleo como matéria prima, contudo, seu aproveitamento produz substâncias que podem contaminar ambientes aéreos, aquáticos e terrestres podendo ainda atingir animais e vegetais. Segundo Connell e colaboradores (1988) os principais contaminantes orgânicos nocivos à saúde que derivam principalmente do petróleo são as bifenilas policloradas, os hexaclorociclohexanos, os hidrocarbonetos clorados empregados como inseticidas (por exemplo, o DDT); os hexaclorobenzenos e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Os HPAs são contaminantes orgânicos semi-voláteis e são encontrados no petróleo com diferentes massas moleculares (Benlahcen *et al.* 1997; Ollivon *et al.* 1999).

Outra fonte de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos é a hulha, também conhecida como carvão mineral (Schauer *et al.* 1996; Didyk *et al.* 2000), e o xisto betuminoso (Moreno García e Funes 1991), formado por rochas sedimentares orgânicas impregnadas de material oleoso (de 5% a

10%) semelhante ao petróleo. O xisto é muito abundante na natureza; calcula-se que a quantidade total de óleo que pode ser produzida do xisto é quatro vezes maior que o total das reservas mundiais de petróleo, contudo seu uso para obtenção de compostos orgânicos é pequeno, pois comparada ao petróleo sua extração é economicamente inviável.

A combustão natural ou provocada de material orgânico como madeira, serragem e derivados, por sua vez também liberam quantidades significantes de HPAs na atmosfera. Segundo estudos realizados por Kim e colaboradores (2002) verificaram que um mês após uma floresta queimar, as concentrações de HPAs no solo queimado eram mais elevadas do que no solo antes da queimada da floresta. Resultados adicionais sugerem que a cinza resultante da combustão da madeira e demais matérias orgânicas é o agente principal que influencia a concentração de HPAs no solo.

Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de analisar a presença de HPAs em resíduos provenientes da combustão da madeira e seus derivados (Nestrick e Lamparski 1982; Thoma 1988; Wunderli *et al.* 1996). Estes estudos revelaram níveis significativos de HPAs nos produtos da combustão da madeira, sugerindo assim que a combustão natural de madeira (fogos em florestas) pudesse ser a principal fonte ambiental de HPAs.

Ao contrário das fontes naturais, as fontes antropogênicas são inúmeras e podem ser divididas em fontes móveis (como a descarga de veículos automotores a gasolina e a diesel), fontes estacionárias (como queima de carvão, geração de energia elétrica), domésticas (como fumaça de tabaco, aquecimento residencial e preparo de alimento, especialmente churrascos e grelhados) e fontes superficiais (como queima de florestas e queimadas agrícolas) (Finlayson-Pitts e Pitts Jr 1997).

Dentre as fontes móveis destacam-se os motores de combustão interna, presentes em diversos tipos de veículos. As fontes estacionárias são subdivididas entre as utilizadas na geração de energia elétrica e calor e, aquelas ligadas à atividade industrial (por exemplo, produção de aço e ferro e fundição de alumínio) e de incineração (principalmente de rejeitos químicos) (Zander 1980; Lopes & De Andrade 1996).

De maneira geral, após emissão por fontes naturais ou antropogênicas, os HPAs se distribuem entre a fase gasosa e o MPA na atmosfera. As maiores partes dos HPAs presentes no MPA se concentram nas partículas de menor diâmetro aerodinâmico (Miguel & Friedlander 1978), o que possibilita um longo tempo de residência na atmosfera e eficiência no processo de deposição na região alveolar dos pulmões.

#### **4.3. HPAS EM COMPARTIMENTOS AMBIENTAIS**

Os HPAs podem ser encontrados em diversos compartimentos ambientais tais como atmosfera, solo, sedimento e podem também estar incorporados aos organismos vegetais e animais por bioacumulação.

Os HPAs em amostras de solo encontram-se geralmente adsorvidos no material particulado constituinte. Sua deposição nas camadas superiores de solo ocorre por ação da gravidade (Bouchez *et al.* 1996). Resultados obtidos por Kim e colaboradores (2002), sugerem que a cinza resultante da combustão da madeira, serragem e outras matérias orgânicas são o maior agente influenciador na concentração de HPAs no solo, contudo a emissão veicular em torno das estradas que apresentam tráfego pesado e intenso pode contribuir para a presença de HPAs em solos de áreas urbanas.

Wild e Jones (1995) estimaram que aproximadamente 90% da contaminação ambiental por HPAs na Grã Bretanha esteja armazenada nos

solos. Esta estimativa exclui locais contaminados tais como minas de carvão, refinarias de petróleo entre outros. Os níveis de HPAs total contidos nos solos estão intimamente relacionados com queimadas naturais (Edwards 1983). Entretanto, as concentrações de HPAs variam entre os solos de clima temperado e tropical. Isto ocorre devido à volatilização e a fotooxidação que ocasionam a degradação mais rápida dos HPAs em solos tropicais (Wilcke *et al.* 2002 e Wilcke *et al.* 2003).

Os HPAs também podem ser facilmente encontrados em sedimentos marinhos ou de rios apresentando concentrações altas ou baixas dependendo das propriedades de sedimentação. O caráter lipofílico e sua grande persistência nestes ambientes são os grandes responsáveis pela acumulação, que aumentam proporcionalmente com o aumento da massa molecular dos HPAs. A acumulação de substâncias no sedimento torna-os disponíveis à biota, podendo ocasionar a bioacumulação nestes organismos (Fernandez *et al.* 1997). Isto ocorre com maior frequência por meio dos compostos de baixo peso molecular que são mais solúveis. A degradação dos HPAs nos sedimentos é muito lenta, principalmente se o sedimento for anaeróbico (Law *et al.* 1997). Em grandes profundidades os sedimentos funcionam como depósitos destes compostos, mas a dinâmica das águas costeiras tende a movimentá-los, devido a este fator podemos considerar os sedimentos como fontes contaminantes e não como depósitos permanentes.

A queima de combustíveis fósseis e queimadas de florestas são os principais responsáveis pela presença de HPAs no ar atmosférico em compartimentos ambientais.

Em vários países vem crescendo a tecnologia de incineração, usada como um dos principais meios para destruição de resíduos orgânicos e inorgânicos nas cidades. Aproximadamente 45% dos resíduos domésticos

são incinerados na França (Ademe 1997). As vantagens principais deste tratamento destrutivo consistem em uma redução grande do volume e uma possível produção de energia térmica, contudo o saldo para o meio ambiente é negativo.

A deposição seca e a úmida (Fig. 9) destacam-se entre os processos físicos de remoção de HPAs da atmosfera. Estes processos dependem principalmente das características físicas e do diâmetro aerodinâmico das partículas em suspensão. Como os HPAs estão preferencialmente associados a partículas submicrométricas ( $d.p. < 1 \mu m$ ), isto implica em maior tempo de residência na atmosfera (Miguel & Friedlander 1978).

A deposição úmida ocorre através da remoção de gases e/ou partículas atmosféricas pela chuva ou neve. A velocidade de deposição seca na atmosfera é controlada pelo tamanho da partícula e, como esperado, aumenta com o tamanho da partícula considerada (Fig. 9).

A deposição seca envolve a sedimentação e a impactação inercial induzida das partículas suspensas através dos ventos ou processos de difusão gasosa, na ausência de deposição úmida. Estudos demonstram que o processo de remoção de HPAs da atmosfera, por deposição seca ou úmida, está diretamente relacionado à temperatura (Lopes & De Andrade 1996) (Fig. 9).

Os níveis de HPAs encontrados em amostras ambientais e biológicas são apresentados na Tabela 3 a seguir.

**Tabela 3** - Níveis de HPAs encontrados em amostras ambientais e biológicas. (Angerer *et al.* 1997)

Tipo de amostra	Concentração
Ar	1,3 a 500 ng/m <sup>3</sup>
Solo	0,8 ng/Kg - 100 mg/Kg
Água	2,5 a 500 ng/L
Plantas	<150 µg/Kg
Alimentos	0,1 a 20 µg/Kg

HPAs têm sido detectados na atmosfera de zonas urbanas, suburbanas, florestais e mesmo nas áreas mais distantes do planeta (Antártica) (Caricchia *et al.* 1995) contudo, suas concentrações são maiores em áreas urbanas densamente povoadas e em zonas industriais (Van Brummelen *et al.* 1996a,b).

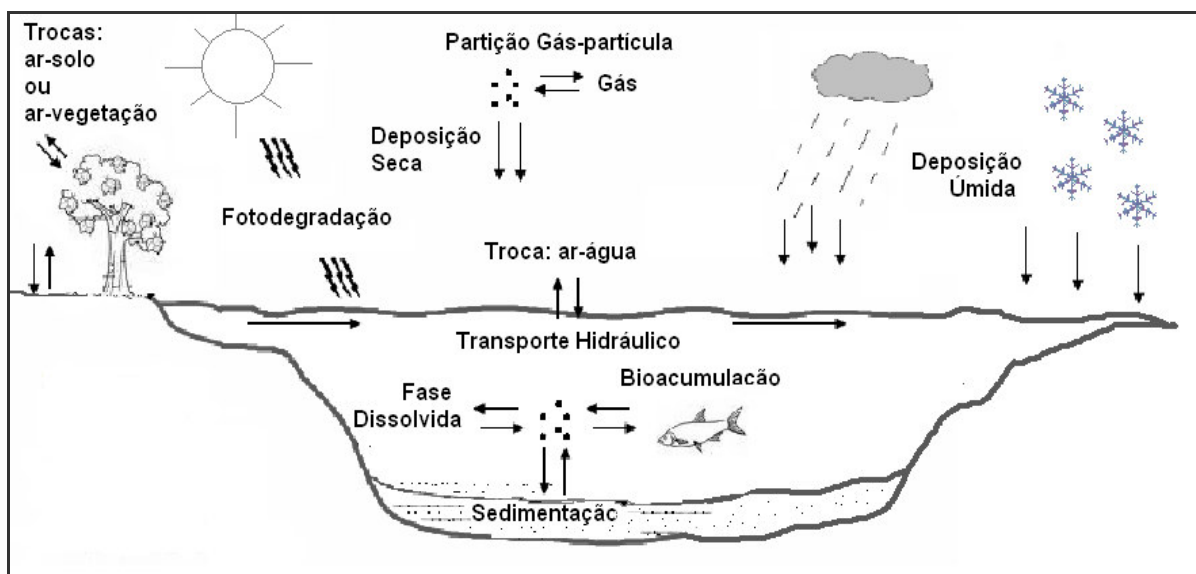


Figura 9 - Mecanismos de transporte e distribuição dos HPAs no ambiente (modificado de Van Brummelen *et al.* 1996 a).

Estudos realizados nos EUA entre 1990 e 1991 (Khalili 1995) indicaram que veículos automotores representam a principal fonte de contribuição total de HPAs para o meio ambiente (Fig. 10). Entretanto, as contribuições relativas das fontes de HPAs dependem também das

características industriais e econômicas da área escolhida para o estudo (Khalili 1995).

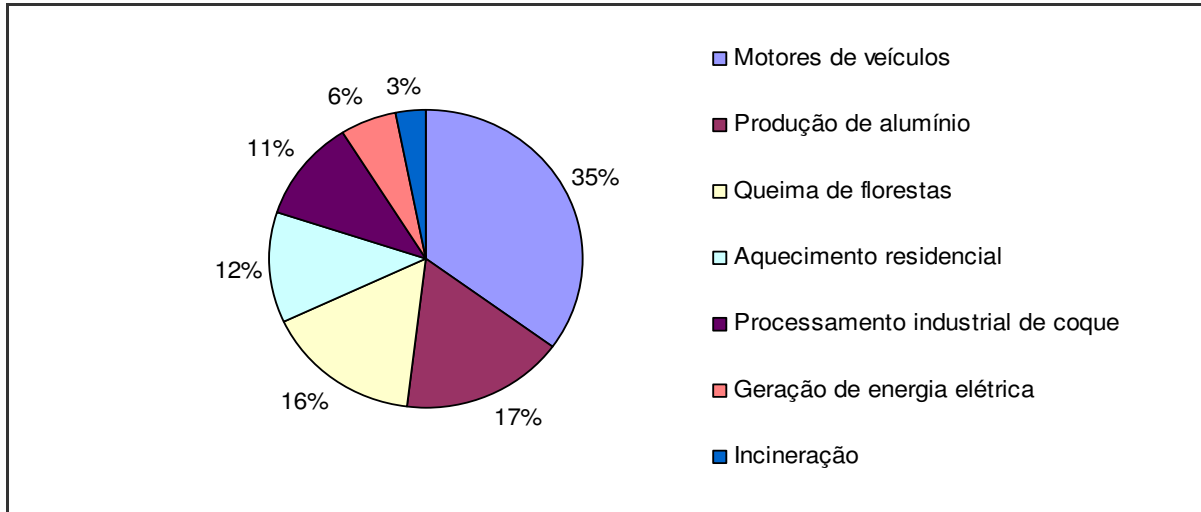


Figura 10 - Fontes de emissão de HPAs para a atmosfera. (Fonte: Khalili 1995).

As reações de alta temperatura, como a combustão incompleta ou o pirólise de materiais orgânicos, originam os HPAs (Nikolaou *et al.* 1984). Estes são emitidos principalmente como gases durante estes processos, mas rapidamente se condensam ou adsorvem em partículas existentes no ar. Conseqüentemente, as partículas de HPAs possuem diâmetro em escala micrômica. Estas pequenas partículas podem penetrar no aparelho respiratório onde se depositam podendo comprometer a saúde devida às suas características cancerígenas e mutagênicas. (Venkataraman e Kao 1999).

#### 4.4. EFEITOS TÓXICOS E CARCINOGENÉTICOS DOS HPAS

O risco à saúde dos seres humanos está relacionado à capacidade que alguns HPAs têm de reagir com o DNA que pode levar a câncer de vários órgãos como pulmão, bexiga e possivelmente mama (Zander 1980; Pereira Netto 2000; Finlayson-Pitts & Pitts Jr 1997; Ding 2005; Perera 1997).

Os HPAs não são agentes carcinogênicos diretos e a formação das substâncias carcinogênicas depende de ativação metabólica no organismo (Baird 2002; Pereira Netto *et al.* 2000; Perera 1997). O esclarecimento a respeito das vias metabólicas assim como das atividades mutagênicas e carcinogênicas de HPAs continuam a ser alvo de investigações devido à crescente presença destas substâncias no ambiente. Uma representação simplificada do metabolismo de ativação do benzo(a)Pireno no organismo humano é mostrada na Figura 11 (Lopes & De Andrade 1996; Pereira Netto *et al.* 2000; Formenton-Catai 2005).

A estrutura do HPA é um importante indicador de seu comportamento mutagênico e carcinogênico. A presença de uma “região de baía” na molécula lhe confere um alto grau de reatividade bioquímica. Essa região é identificada por uma ramificação na seqüência de átomos de carbono no sistema aromático (Baird 2002).

As reações metabólicas de formação de epóxido e adição de H<sub>2</sub>O são partes dos mecanismos de eliminação do HPA tornando-o polar e hidrofílico, através da formação dos intermediários polihidroxilados que permitem posterior eliminação por via urinária. Para o BaP e outros HPAs que contêm região de baía, os derivados polihidroxilados podem reagir com a guanina do DNA formando um aduto e induzir a célula a erros de reparação que podem levar à posterior tumoração (Lopes & De Andrade 1996; Baird 2002).

A reatividade dos metabólitos em que o diolepóxido está na região de baía é comparativamente maior do que a dos metabólitos em que o diolepóxido está na região K, provavelmente como resultado do acesso mais fácil aos orbitais  $\pi$  (Fig. 12) (Pereira Netto 2000).



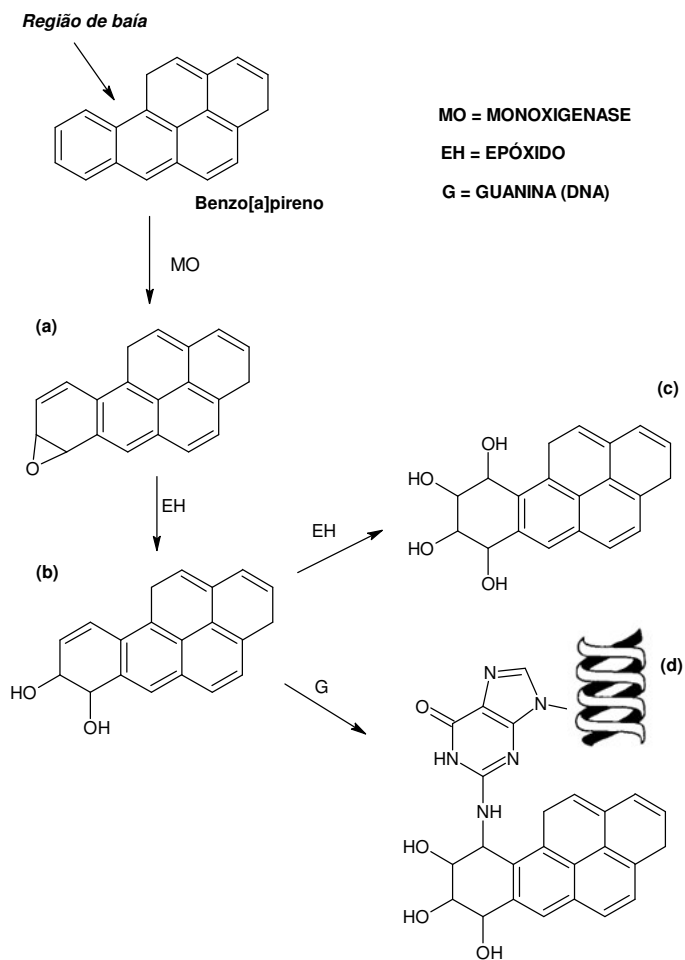


Figura 11 - Mecanismo de eliminação/ativação metabólica do B(a)P. (Fontes: Lopes & De Andrade 1996; Pereira Netto 1999).

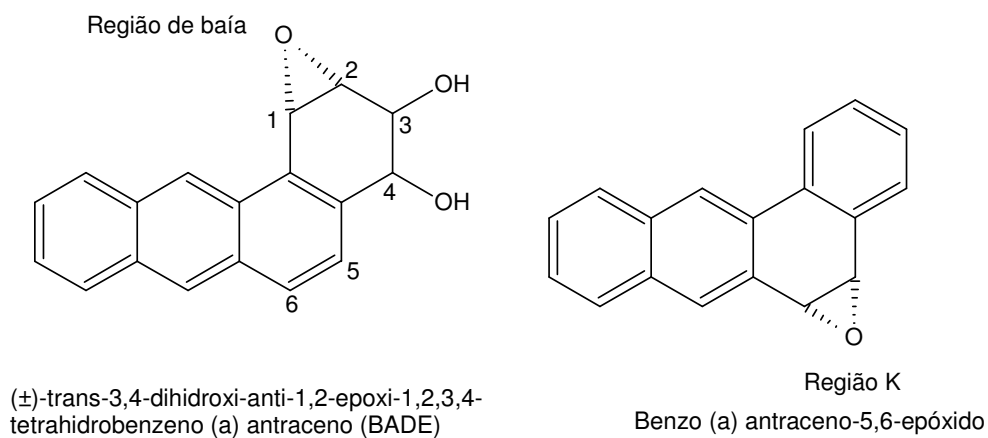


Figura 12 - Representação esquemática do BaP com di-epóxido na região baía e na região K. (Fonte: Pereira Netto 2000).

É importante ressaltar que há um conjunto de fatores responsáveis pela absorção dessas substâncias tais como, o material que contém os HPAs, a estrutura de cada HPA, a susceptibilidade individual a estas substâncias que dependem de predisposição genética, etnia, idade, gênero e ainda estado nutricional, para a mesma dose de exposição (Perera 1997).

Seres humanos e outros animais encontram-se expostos aos HPAs por diferentes vias, das quais destacam-se a inalação de ar poluído e a ingestão de alimentos e água contaminada. No caso específico de seres humanos, vale ressaltar outros importantes modos de exposição como o hábito (ou vício) de fumar, a inalação (passiva) de fumaça de cigarros e a exposição ocupacional em atividades e processos que envolvem a produção de matérias-primas que contenham estas substâncias (ex.: fundições, produção de alumínio, pavimentação de vias etc) (IPCS 1998), ou o simples manuseio das mesmas como fuligens, alcatrão e óleos, principalmente os que estiverem sujeitos a processos térmicos, como óleos lubrificantes usados ou de óleos de pirólise (IARC 1987). Na Tabela 4 encontra-se a classificação dos principais HPAs segundo a sua carcinogenicidade pela IARC (International Agency for Research on Câncer) e USEPA (US - Environmental Protection Agency).

Tabela 4 - Classificação de HPAs selecionados pela IARC (International Agency for Research on Câncer) e USEPA (US - Environmental Protection Agency).

<i>HPA</i>	CLASSIFICAÇÃO DA IARC	CLASSIFICAÇÃO PELA USEPA
Acenafteno	Não classificado	P
Acenaftileno	Não classificado	P
Antraceno	3	P
Benzo(a)antraceno	2 A	P
Benzo(a)pireno	2 A	P
Benzo(e)pireno	3	-
Benzo(b)fluoranteno	2 B	P
Benzo(j)fluoranteno	2 B	-
Benzo(k)fluoranteno	2 B	P
Benzo[g,h,i]perileno	3	P
Criseno	3	P
Diabenzo(a,h)antraceno	2 A	P
Dibenzo(a,e)pireno	2 B	-
Dibenzo(a,h)pireno	2 B	-
Dibenzo(a,i)pireno	2 B	-
Dibenzo(a,l)pireno	2 B	-
Fenantreno	3	P
Fluoranteno	3	P
Fluoreno	3	P
Indeno (1,2,3-c,d) pireno	2 B	P
Naftaleno	2 B	P
Pireno	3	P

**Classificação da IARC:**

2 A= provavelmente cancerígeno para humanos

2 B= possivelmente cancerígeno para humanos

3 = não classificado como cancerígeno para humanos

Classificação pela USEPA: P = prioritário

Segundo a International Agency for Research on Câncer (IARC), pelo menos 12 HPAs são potencialmente cancerígenos ao homem. Segundo esta agência, as substâncias são classificadas em cinco grupos, de acordo com sua toxicidade.

- Grupo 1 – a substância é cancerígena ao homem;
- Grupo 2A – a substância é provavelmente cancerígena ao homem;
- Grupo 2B – a substância é possivelmente cancerígena ao homem;
- Grupo 3 – a substância não é cancerígena ao homem;
- Grupo 4 – a substância provavelmente não é cancerígena ao homem.

Em 1997, a ATSDR (do inglês, *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) juntamente com a EPA (do inglês, *Environmental Protection Agency - USEPA*) formulou uma lista, conhecida como *CERCLA Priorit List*, de substâncias potencialmente tóxicas para os seres humanos. A elaboração dessa lista foi baseada em três fatores: frequência de ocorrência, toxicidade e potencial de exposição humana. Para cada fator foi estipulada uma pontuação que no final foram somadas. O resultado final foi, então, utilizado na classificação das substâncias, de tal forma que as que obtiveram maior pontuação ocuparam os primeiros lugares (ATSDR 2006).

A *CERCLA Priorit List* é atualizada a cada dois anos, quando há uma revisão das pontuações e inclusão de novas substâncias. A partir dessa lista de 1997 a EPA passou a priorizar 16 HPAs em seus estudos (Figura 8). Na lista de 2005 a substância que ocupou o primeiro lugar foi o arsênio, seguido por chumbo e mercúrio. Os HPAs, como um grupo de substâncias, ficaram em sétimo lugar sendo que benzo(a)pireno e benzo(b)fluoranteno ocuparam individualmente a nona e a décima posições, respectivamente (ATSDR 2006).

#### **4.5. HPAS EM SEDIMENTOS**

Os sedimentos constituem um importante compartimento dos ecossistemas aquáticos, sendo reconhecido como o principal destino das substâncias introduzidas nos estuários, podendo acumular estes compostos em níveis elevados que aqueles observados na coluna d'água adjacente (Abessa *et al.* 2001).

No ambiente marinho, os sedimentos agem como um substrato cromatográfico, no qual pode ocorrer adsorção preferencial, fracionamento, eluição e dessorção de poluentes orgânicos e inorgânicos (Taniguchi & Iwakawa 2001).

Por serem hidrofóbicos, muitos compostos químicos tendem a ser adsorvidos no material particulado e a ser depositados no sedimento subsuperficial. Inúmeros processos químicos, físicos e biológicos podem levar ao acúmulo de substâncias no sedimento e a liberação dos contaminantes para a coluna d'água, produzindo riscos para a biota como um todo (Law & Biscaya 1994).

Portanto por sua capacidade de acumular compostos químicos ao longo do tempo e pela sua importância ecológica, os sedimentos têm sido utilizados como indicadores da saúde de ambientes aquáticos, podendo ser empregados na obtenção de uma série de informações associadas ao início, aumento ou diminuição do aporte dessas substâncias.

#### **4.6. BIODISPONIBILIDADE DE POLUENTES EM SEDIMENTOS**

Os sedimentos aquáticos são sistemas biogeoquímicos abertos, dinâmicos, estruturados, compostos tipicamente de uma zona óxica que possui materiais anóxicos (Fenchel 1969; Chapman 1989; Luoma 1983, 1989). Uma variedade de organismos ingere sedimentos aquáticos ou

detritus ínfimo como alimento, ou vivem dentro da parte superior (a poucos centímetros de profundidade), mantendo o contato com a zona óxica para satisfazer suas exigências de oxigênio. A profundidade do limite entre zonas óxica e anóxica é afetada pela taxa da difusão de oxigênio no sedimento comparado ao consumo de oxigênio por microorganismos além do que interações complexas entre o depósito e a erosão, reações geoquímicas, e efeitos físico-químicos da fauna marítima (Myers e Nealson 1988).

Os biólogos consideram o sedimento um meio dentro do qual a fauna marítima vive.

Os geólogos definem o sedimento como um material contínuo que seja produzido pela resistência, pela erosão, e pelo re-deposição das rochas de preexistência (referidas previamente como “o sedimento subsuperficial”). Os sedimentos podem ser formados pela erosão e pelo depósito de água (tal como praias), pelo ar (tal como dunas), ou pelo gelo (tal como depósitos glaciais) (Gary *et al.* 1974). Os materiais que o formam o sedimento podem ser derivados de qualquer tipo de rocha preexistente, incluindo sedimentos previamente formados, ou acumulados por outros “agentes naturais,” como a matéria orgânica que se estabelece após a formação na suspensão por organismos. Os sedimentos tornam-se geralmente mais comprimidos e alterados quimicamente (consolidado e litificado) quando são soterrados. Amplamente, a composição atual de um sedimento depende do material fonte, dos processos de transporte que ocorrem do ambiente de re-deposição, e de todos os processos pré-depositivos. Assim, a descrição do geólogo dos sedimentos tende a centrar-se sobre os fatores que identificam o processo da formação do sedimento.

Dentro dos solos e dos sedimentos, várias “colas” - polímeros orgânicos e inorgânicos que se ligam a partículas individuais formando

grupos maiores de matéria denominados agregados, os quais podem afetar a reatividade total de contaminantes.

A agregação pode alterar a infiltração e transporte da água e conseqüentemente a biodisponibilidade; geralmente, a infiltração e a translocação da água são aumentadas pela formação de agregados por causa de grandes canais formados entre partículas. Por estas razões, agregação é um dos fatores primário que controla a estrutura do solo.

A agregação é promovida inicialmente pela concentração iônica elevada, que permite a floculação de partículas (ou pontes entre precipitados individuais). A matéria orgânica invariavelmente promove a agregação de pequenas aglomerações produzidas pela floculação dentro dos ambientes aeróbios e anaeróbicos como manifestado pelo aumento da condutividade hidráulica e movimento da água. Polímeros inorgânicos tais como óxido férrico hidroso, os carbonatos minerais (principalmente calcita), e o sílica (tipicamente como uma fase amorfa) podem igualmente promover a agregação. Entretanto, os polímeros inorgânicos podem submeter-se ao endurecimento dentro dos solos pela desidratação (Buol e outros 1997), conduzindo à condições no qual o fluxo de água (e a penetração por organismos do solo) são restritos.

As propriedades químicas dos solos são influenciadas igualmente pela agregação e precipitação heterogênea, desde que o material composto e não seus componentes separados que ditam a reatividade total. Os precipitados geralmente depositados incluem (hidr)óxidos de ferro e manganês, material orgânico e carbonatos metálicos.

Os agregados das partículas nos solos e sedimentos podem quebrar-se através de perturbação físico-químicas, tais como aumento de fluido, uma diminuição na concentração iônica, mudanças em composições do eletrólito

de divalente para cátions monovalentes, a introdução de um reductante, ou uma mudança no pH (Bunn *et al.* 2002). Quando isto ocorre, as pequenas partículas ou colóides inicialmente presentes agregados podem ser mobilizados, carreando com eles todos os contaminantes associados. Isto pode alterar fundamentalmente a porcentagem da massa de contaminantes provavelmente biodisponíveis, particularmente se os organismos podem agregar-se e adversamente serem afetados por partículas contaminantes.

Os contaminadores discutidos nesta seção são aqueles que as considerações de disponibilidade biológica são importantes. Isto é, são persistentes e tendem a se ligar fortemente aos solos e aos sedimentos em ambientes naturais. Além disso, estes existem como misturas que podem ter as propriedades extensamente variáveis afetando assim a disponibilidade biológica, tal como a solubilidade. Os compostos orgânicos e inorgânicos são diferenciados por duas razões. Primeiramente, a disponibilidade biológica de compostos orgânicos sobre o tempo tendem a diminuir enquanto estes compostos difundem no solo e partículas de sedimento. Os metais, de um lado, podem aumentar ou diminuir a biodisponibilidade sobre o tempo dependendo da forma do metal originalmente depositado no solo ou sedimento. Em segundo, alguns compostos orgânicos podem ser microbialmente degradados a produtos inofensivos na subsuperfície, enquanto que os metais somente serem transformados a uma espécie diferente de metal. A susceptibilidade de compostos orgânicos à degradação é estreitamente relacionada à sua biodisponibilidade.

Aproximadamente oito milhões sintéticos e naturalmente os compostos orgânicos de ocorrência foram disseminados extensamente desde o século IX (NRC 1994) com seus usos em combustíveis, solventes, aditivos de alimento, e outros produtos. Muitos poluentes orgânicos liberados no



ambiente são encontrados associados a solos e sedimentos, onde podem persistir por décadas. Dependendo do receptor, a associação destes contaminantes com a fase sólida pode igualmente reduzir o potencial de seu transporte nas células vivas que ficam em contato com a matriz contaminada.

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) exibem a persistência nos solos e sedimentos devido a tendência absorverem fortemente. HPAs são criados ou usados em processos da combustão, refino de petróleo, operações de tratamento de madeiras, e processos naturais. Os locais contaminados com o HPAs rotineiramente são encontrados para conter nos solos e sedimentos altas concentrações destes poluentes, apesar do intemperismo e dos processos naturais de atenuação. Diversas outras classes de contaminantes são detectadas freqüentemente no solo, sedimento, e a águas subterrâneas, mas não indica a persistência em longo prazo como dos HPAs, PCBs e nitroaromáticos. Isto pode ser devido a diversos fatores, incluindo a biodegradabilidade do composto, sua tendência em particionar na água, ou sua volatilidade. Por exemplo, os componentes da gasolina - benzeno, tolueno, etilbenzeno e xylene (BTEX) são contaminantes difundidos na subsuperfície, mas são razoavelmente solúveis em água e tendem a biodegradar rapidamente. Assim seu potencial para ser altamente persistente nos solos e sedimentos é geralmente menor do que para os hidrocarbonetos, tais como HPAs.

Um fator importante que afeta a biodisponibilidade dos contaminantes é sua interação com os sólidos nos solos e nos sedimentos. Tais interações são denominadas associação (retenção) e dissociação (liberação) a fim serem inclusivo na abundância de mecanismos que podem ser operacionais (Fig. 13).

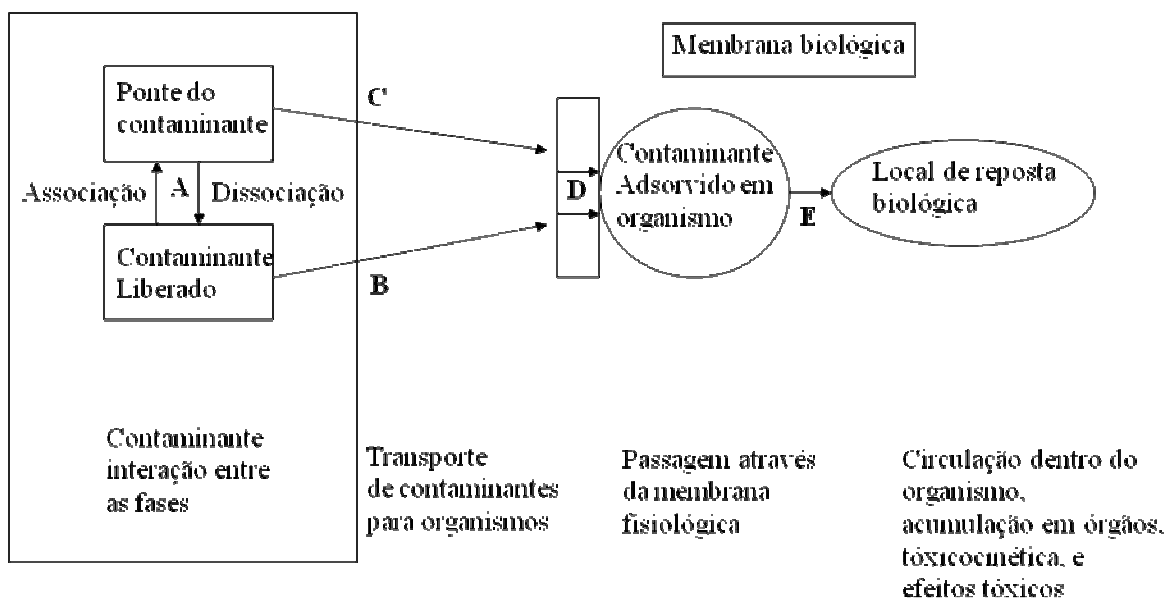


Figura 13 – Exemplo de Associação e Dissociação entre os compartimentos.

As reações de associação de contaminantes orgânicos e inorgânicos podem diferir apreciavelmente. Os contaminantes inorgânicos podem se associar com sólidos através de ligações físico-químicas ou através da precipitação de uma nova fase sólida. A ligação do contaminante orgânico pode envolver uma divisão hidrofóbica ou a formação de pontes físicas ou químicas com a superfície sólida. A terminologia usada para descrever interações sólido-contaminantes (orgânicos e inorgânicos) é fornecida abaixo:

Associação, retenção ou sorption: a ligação de uma espécie sem implicação ao mecanismo (que pode incluir a adsorção, absorção, precipitação e a precipitação de superfície) (Fig. 14).

Adsorção: a ligação de um íon ou de uma pequena molécula para uma superfície em um local isolado - um complexo de superfície bidimensional. Essa ligação pode ser eletrostática, química, ou hidrofóbica (Fig. 14).

Absorção: a assimilação de uma espécie dentro de outro material (análogo a absorção de água em uma esponja) (Fig. 14).

Particionamento: a distribuição de uma população de moléculas de um dado composto entre duas fases, determinadas pela compatibilidade relativa do composto com cada meio (Schwarzenbach *et al.* 1993).

Precipitação: a formação de uma estrutura tridimensional sem associação de um material do substrato (sorbente). Este processo ocorre diretamente na solução e conduz a partículas discretas. A precipitação de superfície, é um mecanismo heterogêneo, se refere a nucleação em partículas previamente existentes. Ambos são processos importantes para a retenção do metal e de metalóide, mas geralmente não contribuem à retenção de composto orgânico nos solos e nos sedimentos (Fig. 14).

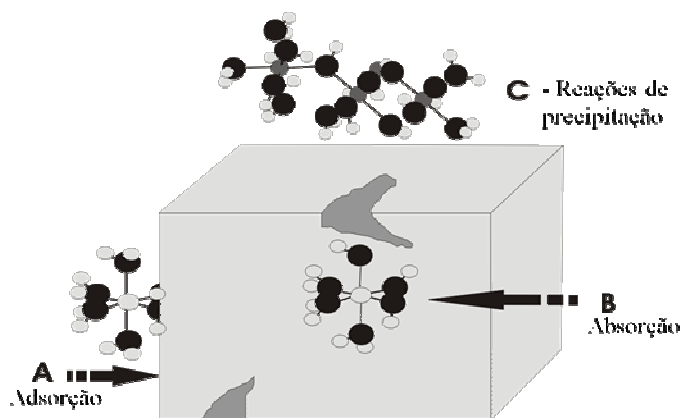


Figura 14 – Mecanismos de retenção de íons ilustrando as reações de (a) adsorção, (b) absorção e (c) precipitação sobre uma superfície mineral (Schwarzenbach *et al.* 1993).

Os contaminantes em partículas do solo e sedimento podem ser transportados junto com as partículas, através da entrada de água ou ar. Isto permite o transporte dos contaminantes que são associados fortemente com as partículas e têm pouco potencial para a liberação na forma solúvel para água ou em forma de vapor para ar.

As partículas contaminadas do sedimento na interface água-sedimento podem ser transportadas através da resuspensão em volumes de água que se movem ao longo da superfície do sedimento (Fig. 15). Devido a seu tamanho, as partículas maiores e mais pesadas podem ser suspensas por um período de tempo curto, tendo por resultado seu depósito após o transporte lateral por uma distância curta. Este processo frequentemente pode ser repetido muitas vezes em sequência, tendo por resultado o movimento para baixo das partículas maiores e mais pesadas (Fig. 15). Este transporte ocorre em uma taxa mais lenta do que no caso das partículas menores, mais claras, que tendem a permanecer suspensas pelo fluxo da água. A quantidade de material transportado rio abaixo é uma função exponencial da velocidade de fluxo, assim que os grandes eventos (inundações) são responsáveis para uma grande proporção do transporte de sedimento na maioria de sistemas. Em rios contaminados isto significa que as inundações podem mover sedimentos contaminados em zona sujeitas a inundações. A implicação é que, como o rio corta bancos novos, este corta continuamente os sedimentos contaminados nas zonas sujeita a inundações, criando um fluxo para baixo, sendo uma fonte secundária de contaminação adicional. As zonas contaminadas sujeitas a inundações adicionam assim a complexidade na remediação de rios (Luthy 2003).

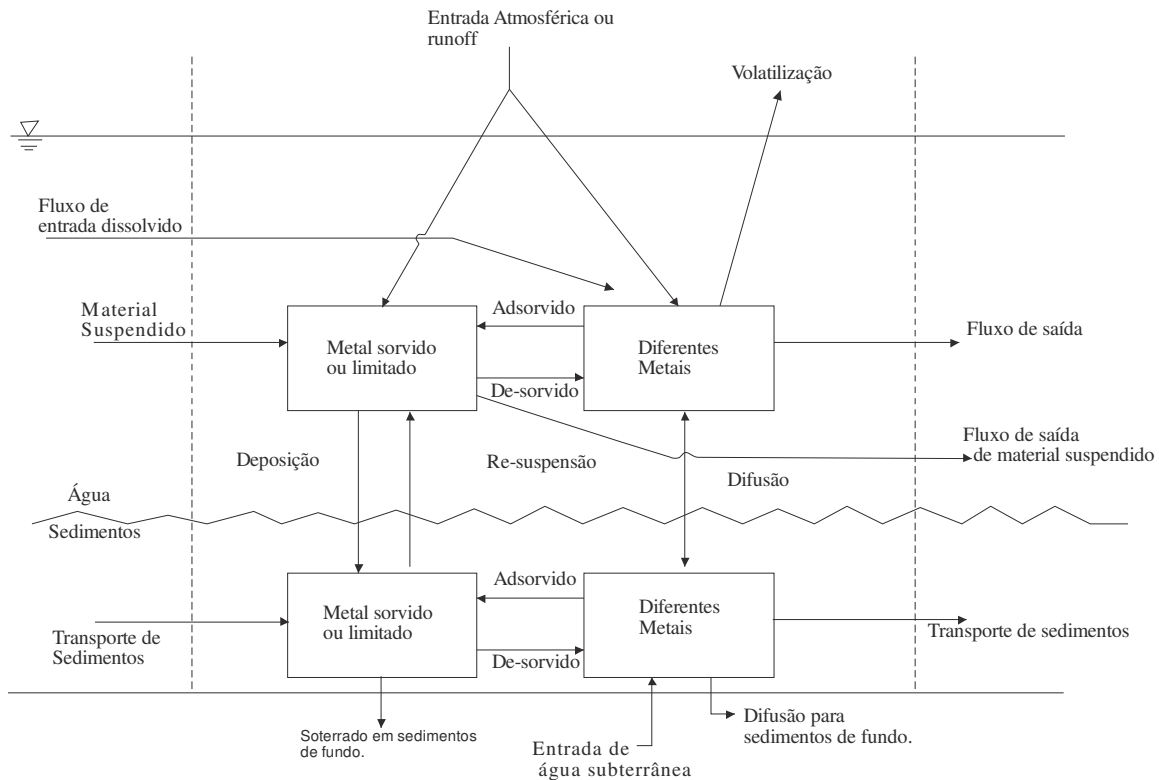


Figura 15 – Representação esquemática do transporte de um metal em canal ou rio demonstrando transporte por carreamento e suspensão de material particulado dissolvido. Note que o material transportado suspenso contém partículas de todos os tamanhos incluindo colóides (Fonte: Schnoor 1996).

A sedimentação e o soterramento são também processos de transporte importantes que podem afetar a biodisponibilidade de contaminantes ligados ao sedimento. A taxa de sedimentação é dependente do tamanho e da densidade de partícula e das condições físico-químicas no sistema que determinam a taxa e a extensão da agregação de partículas. Se as partículas que são depositadas no fundo da água de superfície se submetem ao soterramento elas podem ser resuspensas e movidas rio abaixo dependendo da água de superfície, do tamanho e densidade da partícula, e a magnitude da carga suspensa da partícula. Dentro de um único corpo da água há geralmente localizações onde as partículas tendem a se assentar e

acumular e as localizações em que as partículas residem nos sedimentos por somente um curto período de tempo.

A biodisponibilidade dos contaminantes atuais nos solos e nos sedimentos é governada por uma larga escala de processos físicos, químicos, e biológicos. De fato, a biodisponibilidade é o resultado integrado de um número de processos complexos, local-específicos, químico-específico e organismo-específicos. A biodisponibilidade de um contaminante para um receptor será determinada pelo efeito combinado destes processos, assim como pelas propriedades do solo ou sedimento, o contaminante, e o receptor de interesse. Em particular, a heterogeneidade dos solos e os sedimentos têm um efeito profundo em processos de biodisponibilidade. Embora o número de processos específicos envolvidos na biodisponibilidade seja invariavelmente grande, tipicamente algumas etapas serão as mais restritivas e dão assim o grande impacto na biodisponibilidade total (isto é, para uma dada situação, um processo seletivo é esperado para dominar a biodisponibilidade do contaminante). A avaliação da biodisponibilidade, que tipicamente envolverá a medida de várias propriedades físico-químicas e alguns tipos de respostas biológicas, o objetivo deve ser caracterizar somente nas características mais críticas do sistema usando as ferramentas apropriadas para a medição da biodisponibilidade. O desafio é compreender bastante o sistema (isto é, mecanicamente) de modo que as medidas tomadas enderecem suficientemente aspectos-chaves.

E, finalmente, pouco se sabe sobre processos de biodisponibilidade para as misturas dos contaminantes, que são comuns a quase todos os cenários de contaminação. É certo existir uns sinergismos e antagonismos que afetem como os contaminantes nas misturas se ligam aos sólidos subsuperficiais e como são contraídos pelos organismos. (Por exemplo, se

sabe que a absorção do cádmio em plantas está afetada pelo zinco e pelo cálcio). A fim de se fornecer avaliações exatas da biodisponibilidade de contaminantes como parte da avaliação de risco quantitativa, nós devemos procurar encher os vácuos em nosso conhecimento e compreender melhor como os vários processos diferentes são ligados (Luthy 2003).

#### **4.7. CONTAMINAÇÃO DOS SEDIMENTOS DE MANGUEZAIS POR ÓLEO**

O potencial de associação entre poluente e o substrato de manguezal dependem da especificidade do poluente para o substrato e da estabilidade das substâncias recentemente formadas. A acumulação no sedimento de granulometria fina, com alto teor de matéria orgânica e precipitação de metais e sulfetos, são os aspectos mais importantes que estão envolvidos na acumulação e distribuição de elementos traços nos sedimentos de manguezais. O sedimento de mangue opera como reservatório biogeoquímico para poluentes (metais pesados, HPAs) (Lacerda 1998).

A textura do sedimento controla a razão da penetração de óleo que, em sedimentos finos e lamosos, tende a ser mínima. Apesar disso, muitos autores sugerem paradoxalmente que marismas e planícies de marés podem atuar como verdadeiros reservatórios de óleo no ambiente, particularmente em superfície, por se desenvolverem em ambientes de baixa energia, de baixa declividade e de reduzida movimentação de águas, favoráveis à deposição de sedimentos finos e ricos em detritos. Há sugestões de que determinados compostos do óleo mineral podem persistir por anos ou décadas nesses ambientes, freqüentemente se aderindo aos sedimentos superficiais (SCPMEU 1985).

A natureza dos sedimentos (granulometria, conteúdo de matéria orgânica e mineralogia), bem como a dinâmica das ondas influenciam a acumulação de hidrocarbonetos em sedimentos marinhos. Regiões com sedimentos argilosos e ricos em matéria orgânica, protegidos da ação das ondas, tais como aqueles predominantes em regiões de manguezal, são zonas de preferencial acumulação de poluentes orgânicos, quando comparadas com aqueles locais de substrato grosseiro e sob a ação direta das ondas (Le Dréau *et al.* 1997).

A alta produtividade primária, os abundantes detritos de matéria orgânica, o alto teor de carbono orgânico, aliados aos sedimentos finos e anóxicos de zonas de manguezal, fazem com que os mesmos sejam locais preferenciais para depósito e preservação de HPAs antropogênicos, onde os compostos podem permanecer por muitos anos (Woodhead *et al.* 1999; Readman *et al.* 1996; Readman *et al.* 2002).

As concentrações totais de HPAs em sedimentos de manguezal são geralmente superiores às daquelas de áreas marinhas consideradas poluídas. A concentração de HPAs em sedimentos de mar aberto é normalmente uma a duas ordens de grandeza inferior às daquelas de sedimentos costeiros, demonstrando assim que a natureza do sedimento e a dinâmica do ambiente influenciam a distribuição espacial dos HPAs (Yang 2000).

Pode-se tentar chegar a uma generalização dizendo-se que sedimentos com alto conteúdo de carbono orgânico (a exemplo dos sedimentos de manguezal) apresentam altas concentrações de HPAs (Witt 1995; Yang 2000). Bernard *et al.* (1995) realizaram uma avaliação da poluição por hidrocarbonetos de petróleo em uma zona de manguezal localizada na Ilha de Guadeloupe e verificaram que as concentrações totais de hidrocarbonetos apresentavam uma concentração maior na zona fluvial (ambiente de



mangue), maiores no material particulado do que nas partículas dissolvidas e um decréscimo dessas concentrações em direção a zona marinha.

Os altos valores de concentração de hidrocarbonetos nos manguezais sugerem que eles funcionam como uma barreira natural para os poluentes carregados pelas correntes fluviais em direção ao ambiente marinho e vice-versa. Nota-se ainda que, no manguezal, a maior fração dos hidrocarbonetos encontra-se associada aos materiais particulados, apontando para a importância dos sedimentos do substrato na retenção dos poluentes orgânicos.

Nos estudos realizados por Bernard *et al.* (1995), as investigações quanto à origem dos hidrocarbonetos acumulados nos sedimentos mostraram que havia uma forte contribuição da vegetação continental de manguezal no conteúdo da matéria orgânica sedimentar, evidenciado pela predominância de compostos saturados com número ímpar de átomos de carbono sobre os homólogos com número par de átomos de carbono ( $IPC > 1$ ) e altas taxas  $nC_{29}/nC_{17}$ . O enriquecimento da coluna de água em hidrocarbonetos fortalece a idéia de que os manguezais são importantes fornecedores de matéria orgânica para os ambientes marinhos.

Zheng *et al.* (2002) estudaram a distribuição espacial dos compostos policíclicos aromáticos em sedimentos costeiros úmidos de ambiente subtropical e observaram uma variação na concentração dos HPAs ao longo de uma seção transversal à costa. As concentrações de HPAs estão nos sedimentos superficiais do substrato de manguezal ocorrendo um decréscimo dos mesmos em direção ao mar. A gradual diminuição na concentração dos HPAs em direção ao mar é atribuída à dinâmica das condições hidrológicas ambientais, que favorecem a deposição nos locais mais protegidos da ação das marés. A presença da vegetação de manguezal

produz uma redução na velocidade das correntes de maré o que contribui para aumentar a taxa de sedimentação dos HPA nos substratos desse ecossistema. As maiores concentrações de HPA nos sedimentos superficiais do substrato do manguezal são devidas, portanto, à predominância da taxa de deposição de material particulado em suspensão sobre a taxa de mobilização e transporte dos mesmos, quando comparadas com ambientes hidrológicamente mais dinâmicos.

Zheng *et al.* (2002) determinaram as concentrações de HPA's durante os períodos de verão e inverno em duas baías de Hong Kong (Mai Po e Deep Bay Ramsar) e observaram que as mesmas não mostraram grande sensibilidade às mudanças climáticas locais. A coleta de verão exibiu concentração de HPAs muito superior às do inverno. O fato foi atribuído à persistência dos HPAs estudados em sedimentos com características anóxicas, síltico - argilosos e ricos em matéria orgânica, presentes no manguezal, que interferem na velocidade dos processos de biodegradação dos hidrocarbonetos, mascarando um possível padrão de distribuição das concentrações dos HPAs em função das condições ambiental climáticas.

A riqueza do substrato em material argiloso e carbono orgânico favorecem a fixação e adsorção dos poluentes químicos oriundos da indústria do petróleo (Tavares 1996). No entanto, a afinidade dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos por sedimentos ricos em matéria orgânica foi contestada por Tam *et al.* (2001). Os autores sugerem que a distribuição das concentrações de HPAs em sedimentos seria determinada principalmente pelo aporte direto de hidrocarbonetos no ambiente e, secundariamente, pela natureza do substrato. Isso implica em dizer que, nos ambientes onde o petróleo fosse considerado um tensor crônico, como é o

caso da região noroeste da Baía de Guanabara, as concentrações esperadas de hidrocarbonetos deveriam ser naturalmente elevadas.

Além das características físicas do ambiente, outros fatores condicionam a resposta dos manguezais à introdução do petróleo. Dentre elas pode-se citar o tipo e volume de óleo, padrão de deposição do poluente e sua persistência no sedimento, água e biota (Rodrigues 1997; Novelli 1995).

Segundo Rodrigues (1997), quanto mais abrigado for o ambiente maior será o tempo de permanência do óleo no manguezal e, conseqüentemente, maiores os danos ao ecossistema, ressaltando a importância da ação das marés na recuperação ambiental.

Quando acontecem acidentes envolvendo derrames de óleo em ambiente marinho, regiões de manguezal funcionam como barreiras naturais à penetração de óleo em direção ao continente. Quando o óleo é lançado ao mar, a sua baixa densidade ( $0.83 \text{ g/cm}^3$ ), combinada à ação dos ventos e das marés, faz com que ocorra a difusão do óleo para longe da fonte poluidora (Ke *et al.* 2002). A ação das marés tem sido apontada como eficiente na remoção de volumes significativos de óleo do manguezal e o óleo que recobre a superfície das folhas é facilmente removido, lavado ou diluído pelas marés. Ke *et al.* (2002) verificaram no manguezal de Yi O, que a contaminação dos sedimentos e folhas foi dramaticamente reduzida três meses após o acidente, graças à lavagem efetuada pelas marés. A importância das marés na retirada de poluentes do ecossistema manguezal também reportada por Burns *et al.* 1994a,b; Burns & Yelle-Simmons 1994; Burns *et al.* 2000).

O destino do óleo derramado em ambientes marinhos ou terrestres depende ainda de uma série de fatores físico-químicos e biológicos que

incluem evaporação, foto-oxidação, biodegradação e natureza do sedimento. A combinação desses processos é denominada de intemperismo e é capaz de reduzir a concentração dos hidrocarbonetos em sedimentos.

A evaporação é um importante processo abiótico no intemperismo do óleo derramado. Os componentes do óleo cru, com ponto de ebulição abaixo de 200° C, sofrem evaporação, promovendo uma redução de até 30% do volume inicial do óleo. Compostos como o naftaleno, de baixo peso molecular, são facilmente evaporados, dissolvidos e degradados por ação microbiana, em pequenos intervalos de tempo (Ke *et al.* 2002).

Ke *et al.* 2002 apontam a foto-oxidação como outro processo relevante na modificação da concentração e composição do óleo original. Os HPAs de alto peso molecular são fotossensíveis. Segundo os autores, em zonas de manguezal, em curto prazo, a biodegradação do óleo ocorre mais lentamente que os processos de intemperismo físicos devido às condições anaeróbicas do meio, com baixo oxigênio dissolvido e alto conteúdo em carbono orgânico e argila. A longo prazo, no entanto, a biodegradação desempenha papel importante na recuperação de ambiente impactado por óleo.

Munoz (1997) monitorou um derrame simulado de óleo tipo árabe leve em ambiente de manguezal (Ilha de Guadeloupe) por oito anos, usando como critério de avaliação do grau de degradação do óleo, e a abundância relativa dos componentes saturados em sedimentos superficiais, até a profundidade de 20 centímetros. Os resultados geoquímicos obtidos a partir da identificação e quantificação dos compostos orgânicos do óleo residual por CG – MS demonstraram que, após um ano, os n-alcanos foram sensivelmente degradados; quatro anos após o derrame, uma MCNR (mistura complexa não resolvida) pronunciada era observada nos

cromatogramas, onde predominavam os isoprenóides pristano e fitano. Depois de oito anos de monitoramento, os *n*-alcanos do óleo residual foram totalmente degradados, pristano e fitano foram severamente degradados e o perfil cromatográfico era dominado por hidrocarbonetos saturados cíclicos e policíclicos aromáticos.

Burns *et al.* (1994a) estudaram o tempo de permanência do óleo em um manguezal de clima tropical, em decorrência do derrame de aproximadamente 16.000 m<sup>3</sup> de óleo, ocorrido em 1986 na Baía las Minas (Panamá). Os processos de intemperização removeram os componentes voláteis do óleo (em especial os *n*-alcanos), seis meses após o derrame. Na maioria dos casos, os hidrocarbonetos presentes eram representados por 99% de uma MCNR. Apenas os sedimentos fortemente recobertos por óleo apresentavam, à época, *n*-alcanos e isoprenóides.

Este estágio de degradação em climas temperados exigiria um período de tempo da ordem de dois anos. Depois de um período de cinco anos, o óleo residual do derrame acima descrito alcançou profundidades superiores a 20 cm no substrato do manguezal, movido pela ação das ondas, por difusão favorecida pela presença de tocas de caranguejos e canais deixados pelas raízes mortas da vegetação de manguezal, e ficou trapeado na zona anóxica do substrato desse ecossistema, onde permaneceu inalterado, sem sinais de degradação, inclusive com *n*-alcanos preservados. Este fato levou os pesquisadores a sugerirem que os impactos sofridos por um manguezal, em virtude de um derrame de óleo, são observados por um período de até 20 anos. Assim sendo, em regiões de clima tropical/sub-tropical, embora o tempo de permanência do óleo em praias e no mar seja relativamente pequeno, esse tempo é da ordem de dezenas de anos, quando se considera o ecossistema manguezal (Burns *et al.* 1994a).

#### **4.8. CONSEQÜÊNCIAS ADVERSAS NA FAUNA E FLORA DECORRENTES DA PRESENÇA DO ÓLEO EM MANGUEZAIS**

A presença do óleo no manguezal traz conseqüências que variam amplamente, podendo provocar desde modificações nas folhas, raízes e propágulos da vegetação até a morte dos indivíduos. Em casos mais graves, o extermínio do bosque de manguezal pode vir a ser observado.

A vulnerabilidade da vegetação de manguezal ao óleo está diretamente relacionada ao grau de recobrimento de sua estrutura respiratória (Silva *et al.* 1997).

Garrity *et al.* (1994) sugeriram que 50% ou mais de cobertura por óleo das raízes superficiais por um período mínimo de 18 meses provocaria a morte de 50% ou mais do bosque.

A sensibilidade de cada manguezal ao óleo difere em função das condições específicas de cada bosque, tais como densidade de raízes aéreas e tipo do substrato. Por exemplo, para um manguezal fortemente atingido por um derrame de óleo, sob condições de baixa densidade de raízes aéreas e substrato com textura arenosa, o manguezal sobreviveria enquanto que para uma alta densidade de raízes aéreas e sedimentos argilosos o manguezal morreria (Ke *et al.* 2002), condicionado pela maior fixação do óleo em sedimentos finos e pela possibilidade de migração do óleo em profundidade, graças à porosidade criada pelo sistema radicular da vegetação.

A afirmativa acima deve ser vista com cautela, uma vez que os gêneros de vegetação de manguezal reagem diferentemente ao óleo: *Rizophora* é a mais resistente, enquanto que *Avicennia* e *Laguncularia* são mais sensíveis à presença do óleo (Rodrigues 1997).

Além da vegetação, a fauna do manguezal também sofre com os derrames de petróleo. A morte de pássaros, tartarugas, peixes, invertebrados

em geral, além dos microorganismos que colonizam o substrato e a água, tem sido observada após derrames de óleo nesse ecossistema, causando sérios prejuízos ambientais e econômicos.

As conclusões de Rodrigues (1997) sobre os efeitos do óleo no manguezal estão resumidas na tabela 5.

Tabela 5 – Efeitos do óleo no manguezal (modificado de Rodrigues 1997).

Indivíduo considerado	Efeitos da presença do óleo no manguezal
Folhas	Desfolhação total ou parcial, a depender da intensidade do tensor e diminuição da capacidade fotossintética; Alterações no tamanho das folhas com redução da área foliar; Manchas, murchamento, amarelecimento, enrolamento, clorose e necrose.
Raízes	O recobrimento das raízes aéreas pode causar alterações estruturais, levando o indivíduo à morte (caso extremo).
Propágulos e plântulas	Mutações que causam deficiências em clorofila; Alterações na forma e tamanho dos propágulos; aborto.
Caules	Sinais de queimadura química, escurecimento e murchamento dos tecidos do caule de plântulas e fissuras verticais ao longo do tronco das árvores.
Bosque	Diminuição da densidade total de árvores e indivíduos jovens; Alta mortalidade de plântulas que tentam colonizar a área Os efeitos na estrutura do bosque são notados tardiamente.

Por outro lado, a atividade bacteriana em solos de manguezais pode ser responsável pela rápida degradação do óleo combustível. Esse potencial depurativo é freqüentemente ignorado ou subestimado pela literatura que procura hierarquizar a sensibilidade de sistemas costeiros (Noenberg & Lana 2002).

O desmatamento e degradação de manguezais resultam na mobilização de metais pesados acumulados, e assim seu acúmulo na cadeia trófica costeira. Portanto, a conservação dos ecossistemas de manguezais transcende a questão da biodiversidade, pois este também pode contribuir significativamente com a manutenção da saúde ambiental das áreas tropicais costeiras.

Desta maneira escolheu-se a Baía de Guanabara, local sujeito à poluição crônica e aguda de petróleo e derivados, que em janeiro de 2000, sofreu o maior derramamento de óleo na história desta Baía. Cerca de 1800 m<sup>3</sup> de óleo naval, do tipo MF380, foram liberados, atingindo importantes áreas de manguezais.



## Capítulo 5

### ÁREA DE ESTUDO

#### 5.1. MANGUEZAL DE SURUI

O manguezal de Surui foi diretamente atingido pelo acidente ocorrido em janeiro de 2000. Esse Manguezal está localizado no município de Magé. Adquire importância pela presença na hidrografia do Rio Surui e do canal do Suruí-Mirim ambos servindo de limite – em alguns trechos – entre esta zona e a APA de Guapimirim, além de desaguarem na mesma. Por situar-se também ao norte desta unidade de conservação guarda semelhanças e, suas demais características com as zonas denominadas Norte-APA.

A bacia hidrográfica do Rio Surui possui uma área de 62 km<sup>2</sup>, tendo em sua extensão o maior curso com 17 km. Este rio possui como limite norte a Serra dos Órgãos, limite sul a Baía de Guanabara, limite leste Bacia do rio Iriri e bacia do Rio Roncador e limite oeste a bacia do Estrela/Inhomirim. O mangue de Surui limita-se a oeste com a zona Morro da Solina e ao norte pela rodovia RJ-116.

Assim como as duas outras zonas ao norte da APA esta também requer acompanhamento especial quanto à gestão ambiental, uma vez que apresenta significativos 10,08% de sua área urbanizada com baixa intensidade na ocupação.

A cobertura por floresta é praticamente inexistente (apenas 0.16%), dado que se torna alarmante quando cortado com os índices encontrados nas classes de campos e pastagens (11.31%), vegetação secundária (23.12%) e, principalmente, de encosta degradada, classe de maior superfície na zona com 26.33% da área total. Esses percentuais apontam fortes indícios de desmatamento junto à Área de Preservação Vizinha, processo que deve merecer compensações.

De modo mais auspicioso, as análises detectaram 16.58% da área constituída por mangues conservados, contra 0.21% de mangues degradados. As várzeas e áreas inundadas somam 12.08%, o que indica a possibilidade de ações visando à regeneração também dos manguezais (Egler *et al.* 2003).

Em Janeiro de 2000 na região da Refinaria Duque de Caxias ocorreu um derrame de óleo de cerca de cerca de 1.300.000 litros de óleo combustível marinho MF380, caracterizado como mistura de diesel e óleo combustível pesado, o qual ocorreu num período de maré de sizígia, resultando num impacto sobre as áreas de manguezal ao fundo da Baía de Guanabara e nas áreas mais internas desta. Os manguezais mais atingidos pelo óleo derramado foram aqueles localizados no trecho entre Duque de Caxias (principalmente adjacente à refinaria e ao local de rompimento do duto) e Magé (Desembocadura do rio Suruí) (Soares *et al.* 2006).

Após o derrame ocorrido em janeiro de 2000, vários estudos têm sido desenvolvidos, avaliando o tipo de contaminação e os impactos causados a fauna e flora do manguezal de Suruí.

Trabalhos recentes determinaram que passados quatro anos do acidente, houve uma queda de 70% da concentração inicial dos hidrocarbonetos alifáticos e HPAs. Apesar desse decréscimo, Farias *et al.* (2008) detectaram a presença de HPAs em concentrações muito elevadas no manguezal de Suruí, cerca de 30 µg/g. A cinética de degradação dos HPAs apresentou valores mais elevados nos compostos de menor peso molecular e com o menor grau de alquilação. Os dados de hopano e esteranos confirmam a existência do óleo derramado nos manguezais de Suruí. Ainda com base na interpretação de espectros de massa e comparação com dados da literatura foi possível sugerir a presença de HPAs de origem diagenética de diversos compostos tetra e penta cíclicos. Também a distribuição dos n-alcenos de

maior peso molecular nos sedimentos evidenciou a presença de produtos oriundos de vegetais superiores. Porém, como esta região está localizada próxima a APA de Guapimirim, esses manguezais não sofrem diretamente pela região industrial (Farias *et al.* 2008).

## Capítulo 6

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### 6.1. COLETA DAS AMOSTRAS DE SEDIMENTOS SUPERFICIAIS

As amostras superficiais foram coletadas em 21 de janeiro de 2006 em 23 estações distribuídas em uma malha amostral entre os rios Suruí e Suruí-Mirim (Fig. 16). As amostras foram utilizadas para análise de granulometria do sedimento, medida de condutividade elétrica, análise de matéria orgânica, biopolímeros, atividade respiratória bacteriana, atividade enzimática bacteriana e concentração de biomarcadores de petróleo.

As amostras de sedimento superficial foram coletadas em 23 estações ao longo do Manguezal de Suruí (Figuras 16).

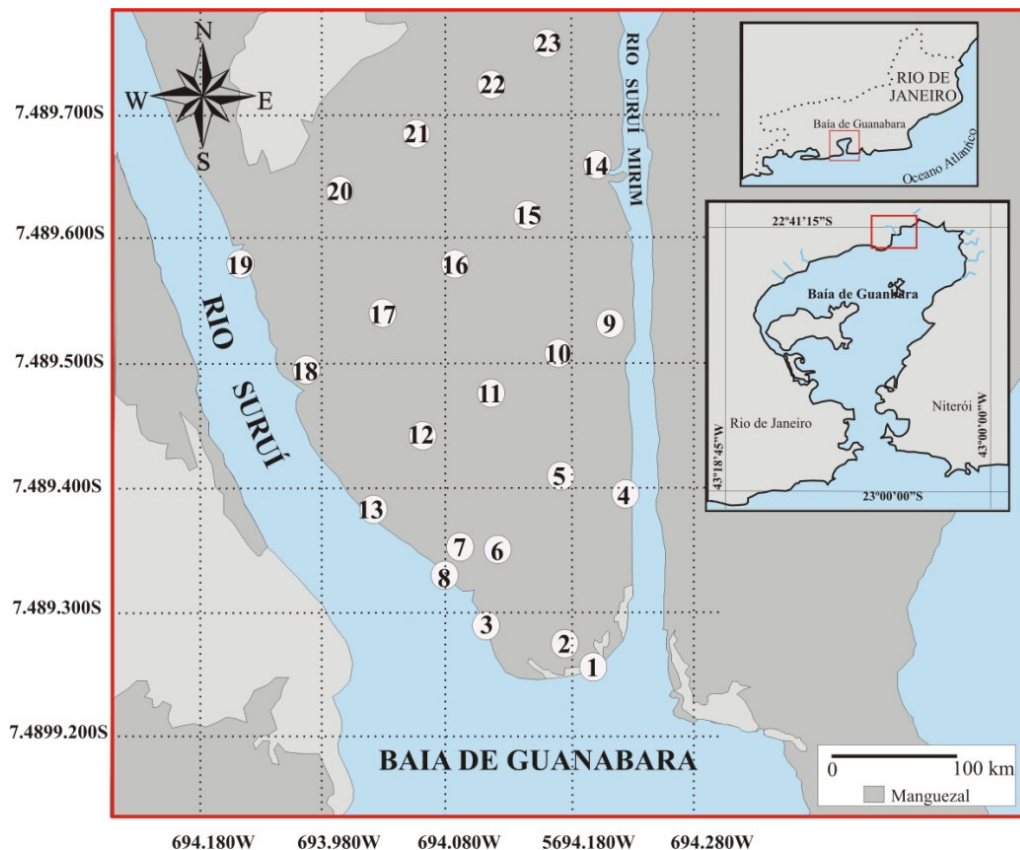


Figura 16 – Localização das amostras superficiais ao longo do Manguezal de Suruí.

As amostras foram transportadas para o laboratório, em caixa térmicas na presença de gelo, sendo imediatamente utilizadas para a análise dos parâmetros microbiológicos. Para a determinação do número de células

microbianas retirou-se uma alíquota das amostras, as quais foram fixadas em formol e guardadas em freezer.

## 6.2. COLETA DOS TESTEMUNHOS

Foram analisados quatro testemunhos (T1, T2, T3 e T4), coletados no Manguezal de Suruí, próximo à APA de Guapimirim. Estes testemunhos foram retirados pelo método de percussão, utilizando tubos de alumínio (Fig. 17; Tab. 6). Os testemunhos foram fatiados e as amostras constituídas dos 3 cm iniciais e após de 5 em 5 cm (5-10; 10-15; 15-20; 20-25 e 25-30 cm), todas armazenadas em potes previamente descontaminados para posterior análises.

Tabela 6 - Coordenadas e comprimento dos testemunhos.

Testemunho	Latitude (S)	Longitude (W)	Profundidade no sedimento (cm)
1	22°41.56'	43°06.57'	30
2	22°41.43'	43°06.62'	30
3	22°41.31'	43°06.38'	30
4	22°41.35'	43°06.36'	30

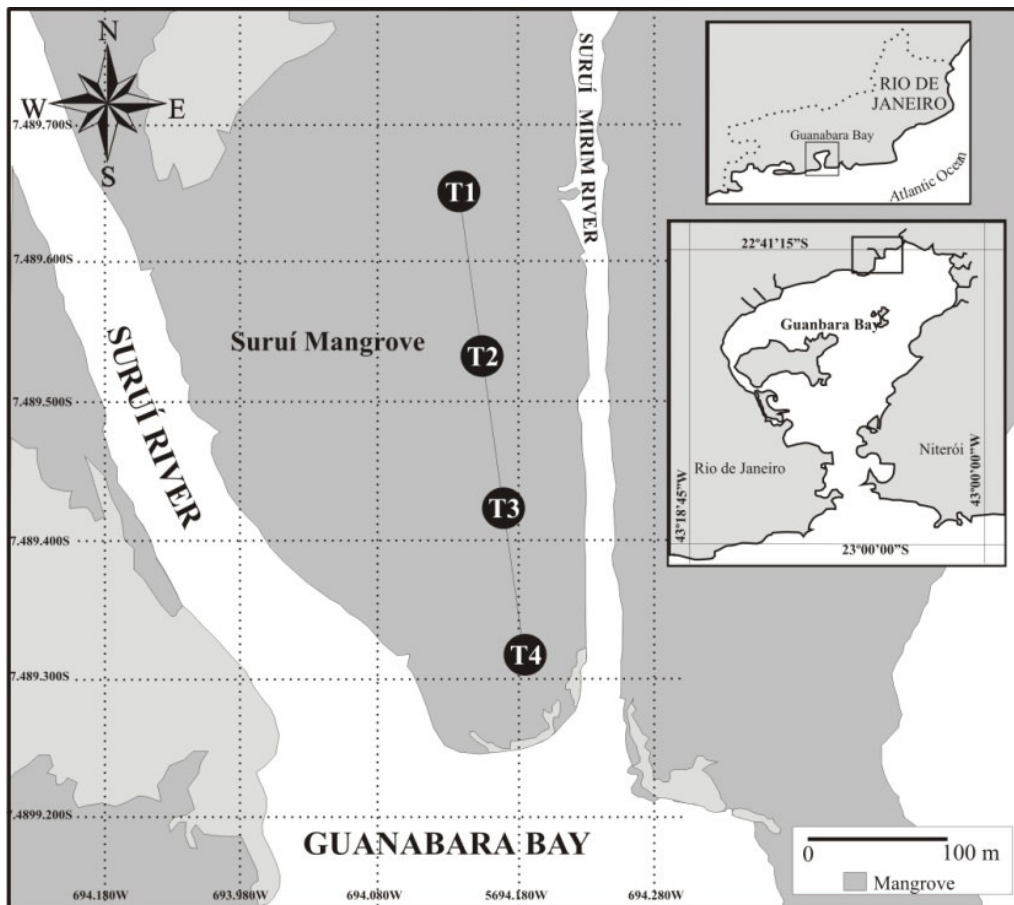


Figura 17 – Localização dos Testemunhos ao longo do Manguezal de Suruí.

### 6.3. TOPOGRAFIA

A topografia do manguezal foi realizada em 16 de outubro de 2007, pelo Laboratório de Agrimensura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Para o levantamento de campo foi usada uma Estação Total, Marca Trimble, modelo 3305, classe 2 (precisão média) com precisão angular de 5" e precisão linear de 2mm + 2ppm. O georreferenciamento foi feito com receptores GPS, marca Ashtech, modelo ProMark2 com precisão linear de 5mm + 1ppm e precisão altimétrica de 10mm + 2ppm.

O Levantamento Topográfico foi feito a partir de uma poligonal fechada de 19 vértices e apoiada em duas estações auxiliares com

receptores GPS, sendo que as coordenadas planas dos pontos estão no Sistema UTM, SAD 69, MC = 45° w Gr. com altitudes ortométricas.

Segue o quadro com os dados de fechamento da poligonal:

<b>Poligonal</b>	<b>Dados de Fechamento</b>
Fechamento Angular	0°01'55"
Fechamento Linear	0,176 m
Diferença em E	-0,176 m
Diferença em N	-0,005 m
Diferença Altimétrica	-0,003 m
Precisão Relativa	1 : 6.793
Comprimento da poligonal	1.195,294 m
Número de Vértices	19

## **6.4. PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS**

### **6.4.1. ATIVIDADE DAS ENZIMAS ESTERASES (ESTE) - *ESTIMATIVA DA HIDRÓLISE DA FLUORESCEÍNA DIACETATO***

#### **6.4.1.1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

O método é baseado na estimativa da fluoresceína produzida em amostras (solo, água, etc.) tratado com solução de diacetato de fluoresceína e incubado a 24 °C.

Compostos fluorogênicos são enzimaticamente transformados em produtos fluorescentes que podem ser visualizados por microscopia de fluorescência. Derivados de fluoresceína podem ser hidrolisados por lipases, esterases e parcialmente por proteases. A reação pode ser catalisada por todas as células bem como por enzimas extracelulares. Microorganismos, algas, protozoários e tecidos animais são capazes de catalisar esta reação. Ésteres de fluoresceína são apolares e podem ser transportados facilmente através da membrana de células ativas. Em contraste produtos fluorescentes são polares e permanecem no interior da célula. Portanto, a técnica pode ser usada para revelar a atividade

microbiótica de células em culturas puras e em solos, mas não esporos ou células na fase estacionária de crescimento (Stuberfield & Shaw 1990).

A hidrólise de FDA (diacetato de fluoresceína) em solos é linear com o tempo e solo acima de 3h e 4g de peso seco, respectivamente. Zelles e colaboradores e Hund têm usado 0.5 e 1.0g (peso fresco) de solo e 20 mL de fosfato padrão. A concentração final de FDA era 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . O relacionamento entre a atividade e o tempo foi linear acima de 75min a 23°C. Tendo como pH ótimo entre 7 e 8. Em pH 8.5 ocorre hidrólise química do FDA.

Acetona é necessária para parar a reação e extrair a fluoresceína das células. Alguns compostos extraídos do solo podem interferir com as medidas colorimétricas. Poluentes têm diferentes efeitos na hidrólise do FDA. A hidrólise do FDA diminui com a profundidade do solo e está ligada com a respiração do solo. O FDA bem como a fluoresceína podem estar adsorvidas em matéria orgânica do solo e minerais de argila, sendo a hidrólise do FDA completamente inibida após esterilização térmica (Stuberfield & Shaw 1990).

#### **6.4.1.2. PROCEDIMENTO**

O sedimento (1g de peso fresco) ou amostra líquida (1,0ml) é colocado em um frasco Erlenmayer (250mL) e tratado com 19mL de tampão fosfato pH 7.6. Adicionar 100  $\mu\text{L}$  (0.1ml) de diacetato de fluoresceína (concentração final de  $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Fazer branco (controle): amostra + tampão fosfato + 100  $\mu\text{L}$  de acetona. A mistura é incubada no shaker rotatório a 24°C por 75 minutos. Após a incubação a reação é interrompida, colocando-se os erlenmeyers no gelo fundente (água + gelo).

Retirar uma alíquota, colocar em tubo de centrífuga e centrifugar a durante 10 a 15 minutos.



Medir a densidade ótica do sobrenadante límpido à 490 nm.

## **6.4.2. ATIVIDADE DO SISTEMA TRANSPORTADOR DE ELÉTRONS - *QUANTIFICAÇÃO DE DESIDROGENASES E DA ATIVIDADE DO SISTEMA TRANSPORTADOR DE ELÉTRONS (ASTE)***

### **6.4.2.1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

O método é baseado na mudança de coloração do 2-[(p-iodofenil)-3-(p-nitrofenil)-5-fenil tetrazolium] como acceptor artificial de elétrons. O produto da reação, medido a 475 nm, é o INF (cloreto de iodonitrotetrazolium).

O método está fundamentado no fato de que a atividade do sistema transportador de elétrons (ASTE) das células aeróbias e anaeróbias, é capaz de reduzir o INT para INT-formazan.

O INT funciona, então, como um acceptor artificial de elétrons, quando o complexo succinato desidrogenase, da cadeia transportadora de elétrons, é reoxidado. As desidrogenases são enzimas constitutivas, intracelulares e a atividade está ligada diretamente a respiração e, conseqüentemente, é um método que avalia células viáveis e geração de adenosina trifosfato (ATP). A ASTE existe em organismos aeróbios e anaeróbios e é freqüentemente usada como um índice do metabolismo e, portanto, está relacionada com a biomassa.

Usualmente a quantificação desta atividade é feita com o suprimento de doadores de elétrons como o NADH, NADPH e succinato, obtendo uma análise da atividade potencial da microbiota, diferente daquela que ocorre em condições naturais. Trevors (1984) realizou um ensaio incubando INT num meio sem qualquer suprimento de doadores de elétrons, respeitando as condições naturais e quantificou a atividade real da microbiota. Davignon & Relexans (1989) fizeram uma modificação no método de Trevors (1984).

Eles estabeleceram uma relação entre o consumo de O<sub>2</sub> e o INT-Formazan para culturas axênicas de bactérias e com amostras de sedimento. A justificativa foi que a quantificação de atividades biológicas em ecossistemas aquáticos é essencial para o conhecimento de seu funcionamento e acrescentaram, aos métodos clássicos de medidas de consumo de O<sub>2</sub>, esta metodologia, expressa como atividade do sistema transportador de elétrons (ASTE). Neste trabalho, na fase experimental é usada a estratégia de Trevors (1984), sem o uso de doadores de elétrons, mas na fase de cálculo é empregado Davignon & Relexans (1989). O resultado obtido corresponde a atividade atual ou real, pois não é oferecido doadores de elétrons, como succinato ou NADH.

#### **6.4.2.2. PROCEDIMENTO**

Pesar 1 g de sedimento úmido em vidro escuro, estéril e com tampa. Manter uma camada de hidratação na superfície do sedimento (apenas o menisco) Para cada amostra de sedimento, é aconselhável preparar 3 réplicas.

Para cada amostra de sedimento, é aconselhável preparar alíquotas controle. O controle receberá todos os reagentes, exceto o INT.

Adicionar 0,2 ml de solução do INT 8mM. (A solução estoque de INT deve ser preparada em água deionizada (25 a 50ml), e guardada em frasco âmbar, na geladeira) Homogeneizar o INT com o sedimento, com o auxílio de um bastão de vidro Incubar à temperatura ambiente, protegido da luz, por 35 minutos. (O INT é fotolábil, logo deve ser manipulado sob baixa luminosidade, até o momento da leitura em espectrofotômetro).

Interrupção da reação – adicionar 0,5 ml de solução de formol a 20 % (1:1 formol P.A. + água destilada). Homogeneizar bem. (esta etapa deverá ser realizada somente se a leitura espectrofotométrica não for

realizada imediatamente, podendo guardá-la até 3 dias sob refrigeração e ao abrigo da luz ).

Extração - Após decantação (por aproximadamente 5 minutos) descartar o sobrenadante (porção líquida), com muito cuidado. Em seguida, adicionar 5 ml de metanol P.A. e homogeneizar vigorosamente por 30 segundos. Deixar extraído por 10 minutos e em seguida homogeneizar novamente.

OBS: é aconselhável a extração com 10 ml de metanol, quando a atividade se apresentar alta, a fim de obter uma melhor faixa de leitura no espectrofotômetro.

Observar se há coloração intensa na solução obtida ou se o sedimento se originar de local rico em matéria orgânica. Repetir o processo até obter uma DO 0,4. Para leitura retirar a porção líquida de cada frasco e centrifugar por 5 minutos para a decantação do material particulado. (Atenção: os frascos devem ser equilibrados dois a dois. Em seguida devem ser colocados em posição oposta na centrífuga).

*Obs.: O INT-formazan extraído é fotolábil, logo deve-se manipulá-lo sob baixa luminosidade até o momento da leitura em espectrofotômetro.*

Ligar o Spectronic ½ hora antes da leitura, no comprimento de onda de 475 nm. Ao fazer a leitura, primeiro ler o controle e em seguida as alíquotas de sedimento correspondentes ao ensaio da desidrogenase.

### **6.4.3. DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS BACTERIANAS E CARBONO BACTERIANO (CB)**

Para a determinação do número de células de bactérias e leveduras, uma alíquota de 1g das amostras de sedimento foram fixadas em formol 2% e estocadas em geladeira para contagem no microscópio de epifluorescência.

Para a produção das lâminas, alíquotas de 0,5 ml das amostras estocadas na geladeira foram retiradas e sofreram diferentes diluições de acordo com a concentração de células de cada amostra. As diluições foram realizadas com água deionizada estéril e em seguida foram adicionados 75 µl da solução de laranja de acridina, sendo a mistura filtrada em membrana Nuclepore de policarbonato preta, 0,22 µm de porosidade e diâmetro de 25 mm. Amostras que possuíam altas concentrações de células sofreram maiores diluições a fim de ser possibilitada a leitura. As amostras de sedimento ainda sofreram um tratamento de ultrassom por 5 minutos a fim de desagregar as células das partículas da amostra.

As células foram contadas em 10 campos, em triplicata, através do microscópio Axioskop, modelo 50 da Zeiss e com aumento de 1000 vezes. O número de bactérias foi calculado segundo Kepner *et al.* (1994).

$$\text{Número de células (cm}^3\text{)} = X A d a^{-1} n^{-1} v^{-1}$$

Onde:

X = Número de células contadas (soma de todos os campos contados)

A = Área do filtro de policarbonato ( $\pi r^2$ )

d = Diluição

a = área de campo do microscópio

n = número de campos contados (havendo réplicas será calculada a média aritmética dos campos contados).

V = volume da amostra filtrada

Para se calcular o carbono bacteriano foi utilizado o método de Carlucci *et al.* 1986. Os autores criaram uma fórmula que permite a quantificação do carbono de origem bacteriana, através do biovolume dos microrganismos:

$$C - \text{Biomassa} = \mu\text{g C/cm}^3$$

Uso do fator  $1,2 \times 10^{-14}$  g C por bactéria

#### **6.4.4. RESPIRAÇÃO BACTERIANA**

Com o intuito de saber as condições que o sedimento coletado se encontrava, foi realizados testes para qualificar a respiração bacteriana, podendo-se assim analisar o quão impactado o ambiente se encontrava. Os ensaios foram feitos em duplicada para cada estação de coleta, segundo a metodologia descrita em Alef & Nannipieri (1995).

Para verificar a produção de  $N_2$ , foi utilizado meio de cultura contendo 0.687 g/L de  $NaNO_2$  e 2 g/L de bactopectona em água do mar à 75%. Foi posto 5 ml de meio por tubo de ensaio rosqueados, com tubo de Durhan (Fig. 18).

Para detectar o processo de fermentação foi utilizado meio de cultura contendo 2 g/L de bactopectona; 15 g/L de Agar em água do mar à 75% e 0.5 mL de azul de metileno (solução saturada 1g/25mL água). Foi colocado 5 mL de meio por tubo de ensaio rosqueado (Fig. 18).

Para verificar sulfato-redução, foi utilizado meio de cultura contendo 4 g/L de lactato de sódio, 0.1 g/L de ácido ascórbico, 0.2g/L de sulfato de magnésio, 0.01 g/L de fosfato dipotássico, 0.2 g/L de sulfato ferroso amoniacal, 10g/L de cloreto de sódio, 0.001 g/L de resarzurina sódica, 0.4906 g/L de cisteína para 1L de água (Fig. 18).

Nos meios líquidos, desnitrificação e sulfato-redução, foi adicionado ao meio de cultura 1mL de sedimento e este era homogenizado e no meio sólido, contendo agar, o sedimento era inoculado com o uso da alça de platina por todo o tubo de ensaio.

A leitura dos resultados foi feita após 96h, e observava-se se houve crescimento bacteriano através das mudanças do meio. Quando ocorre a desnitrificação há produção de gás dentro do tubo de Durhan; a mudança observada no meio para fermentação é o consumo do azul de metileno (Fig. 19) e no meio de sulfato-redução ocorre uma mudança na coloração do meio, passando de rosa para preto (Fig. 20).

A desnitrificação é uma das formas de respiração que as bactérias realizam quando o ambiente se encontra em anoxia, sendo um tipo de respiração anaeróbia assim como a sulfato-redução. A fermentação pode ocorrer tanto em aerobiose (presença de  $O_2$ ) como em anaerobiose (ausência de  $O_2$ ). Para saber se a fermentação ocorreu em aerobiose ou anaerobiose, observa-se o local que ocorreu o crescimento bacteriano; se o crescimento foi na superfície do meio a fermentação ocorreu em aerobiose, caso o crescimento seja no fundo do tubo a fermentação que ocorreu em anaerobiose (Fig. 21).



Figura 18 – Meios de cultura em tubo de ensaio rosqueado. Da esquerda para a direita pode se observar o meio preparado para desnitrificação, o meio para sulfato



Figura 19 - Resultado em meio de cultura para o processo de desnitrificação e produção de  $N_2$ , a atividade pode ser verificada pela presença de bolhas dentro do tudo de Durham.



Figura 20 - Resultado em meio de cultura para o processo de sulfato redução, onde há precipitação sulfato de magnésio e sulfato ferroso, observa-se mudança na coloração do meio

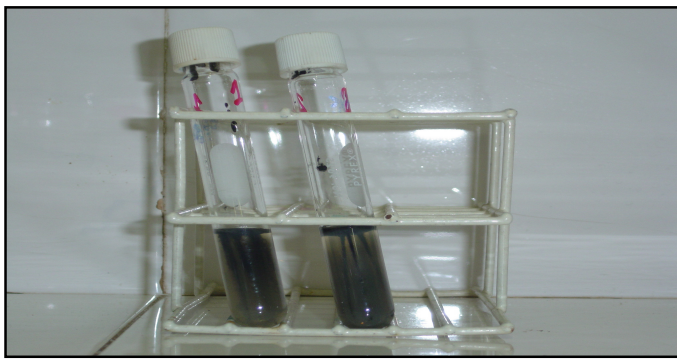


Figura 21 - Resultado em meio de cultura para o processo de fermentação onde se tem o consumo do corante Azul de Metileno e a produção de ácidos orgânicos, como  $\text{NH}_4$ .

## 6.5. ANÁLISE GRANULOMÉTRICA (SEDIMENTOS SUPERFICIAIS)

As amostras coletadas foram colocadas em um becker preenchido com água deionizada. Com um bastão de vidro homogeneiza-se para desagregação do sedimento e eliminação dos sais solúveis.

O sedimento é então passado a úmido na peneira de 0.062 mm para separação da fração grossa ( $>0.062$  mm) e da fração fina ( $< 0.062$  mm).

As frações arenosas ( $>0.062$  mm) foram peneiradas, usando-se peneiras com intervalo de 0,5phi. Para classificação foi utilizada a escala de Wentworth. As frações lamosas ( $<0.062$  mm) foram analisadas utilizando-se o método de pipetagem (Suguio 1973).

## **6.6. ANÁLISE GRANULOMÉTRICA (SEDIMENTOS DOS TESTEMUNHOS)**

Para as análises de granulometria foram utilizados em torno de 4g de sedimento. Os sedimentos foram colocados em Becker de 150 ml e tratados com peróxido de hidrogênio, adicionando-se esta substância, diariamente, até o término da reação ou no máximo durante duas semanas, a fim de se eliminar toda a matéria orgânica. Após este procedimento o sedimento foi lavado sucessivas vezes com água destilada separando-se a solução por centrifugação (3000 rpm por 5 minutos) e então agitado durante 12 horas com o dispersante Hexametáfosfato de sódio 4,5M. O tamanho dos grãos das amostras de sediment coletadas no Manguezal de Suruí foram determinadas por um sedimentômetro Malver a laser, modelo Mastersizer 2000, com capacidade analítica do tamanho de partículas alcançando entre 0.02 to 2000  $\mu\text{m}$ .

## **6.7. MATÉRIA ORGÂNICA**

Para a determinação do teor de matéria orgânica usou-se o método de Parker *et al* (1983). Inicialmente pesou-se 50g de amostra que foi seca em estufa por 24 horas a uma temperatura de 60°C. Após esse período o sedimento foi calcinado em mufla a 500°C, a fim de que toda a matéria orgânica existente na amostra fosse queimada. Depois de 3h este material foi retirado e pesado. A matéria orgânica total pode ser determinada pela diferença do peso inicial para o peso final.

## **6.8. QUANTIFICAÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS (CARBOIDRATOS, LIPÍDIOS E PROTEÍNAS)**

Os biopolímeros (proteínas, carboidratos e lipídeos) serão quantificados de acordo com Pusceddu *et al.* (2004).



### **6.8.1. QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS**

Detalhes sobre a hidrólise enzimática de proteína e carboidrato de amostras de sedimento de fundo-mar foram descritos por Dell'Anno *et al.* (2000). Amostras de sedimento congeladas foram homogeneizadas em 0.1 M Tris, 0.1 M EDTA (pH 7.5) contendo 1 mM DTT (dithiothreitol; relação de sedimento: tampão de 2.5 w/v) e sonicadas 3 vezes por 1 min (com intervalos de 30 s) antes da adição de enzimas. Amostras réplicas do sedimento (n = 3), de cada camada de sedimento (i.e. amostras tratadas) receberam 100 µl de proteinase-K (1 mg/ml) e 100 µl de protease (600 µg/ml); outras réplicas foram adicionadas a um volume igual de solução de Tris-EDTA sem enzimas (i.e. amostras controle). Todas as amostras foram incubadas por 2 h a 37°C sob agitação e subsequentemente filtradas em filtros de GF/F e enxaguadas 2 vezes com 5 ml de 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5) resfriado, para remover a fração de proteína digerida e as enzimas dos sedimentos. Sub-amostras de sedimento amortizadas a 550°C por 4 h e após processadas utilizadas como branco.

Análises de proteína destas amostras e de sedimentos intactos foram analisadas de acordo com Hartree (1972), modificado por Rice (1982) para compensar a interferência do fenol. As concentrações de proteína foram calculadas pelas curvas de calibração de soro de albumina (variando de 2.5 a 50 µg/ml). Diferenças entre concentração de proteína do controle e amostras foram assumidas para representar a concentração de proteínas atualmente hidrolisadas através de proteases (proteínas hidrolisadas, PRTH). concentrações de proteína totais de sedimentos intactos (PRTT) e concentrações de PRTH foram normalizadas para peso seco de sedimento.

### **6.8.2. QUANTIFICAÇÃO DE CARBOIDRATOS**

Para digestão enzimática de grupos de carboidratos sedimentares, amostras de sedimento congeladas foram homogeneizadas com 0.1 M Na-fosfato de M, 0.1 M EDTA (pH 6.9; relação de sedimento:tampão de 2.5 w/v) e sonicadas 3 vezes por 1 min (com intervalos de 30 s). Amostras réplicas (n = 3, amostras tratadas) receberam 100 µl de α-amilase, 50 µl de β-glucosidase, 100 µl de Proteinase K e 100 µl de lipase (solução estoque de todas as enzimas foi 1 mg/ml). Outros jogos de réplicas tratados receberam 0.1 M Na-fosfato em vez de soluções de enzima foi utilizado como controle. Amostras foram incubadas durante 2 h a temperatura ambiente sob agitação. Como para hidrólise de proteína, sub-amostras de sedimento, amortizadas a 550°C durante 4 h serão utilizadas como branco. Depois de incubadas, todas as amostras serão centrifugadas a 2000 ×g durante 10 min e uma alíquota do sobrenadante utilizada para determinar carboidratos liberados dos sedimentos. Carboidratos solúveis serão determinados do sobrenadante das amostras controle. Carboidratos de todos os subrenadantes e de sedimentos intactos serão analisados espectrofotometricamente de acordo com Dubois *et al.* (1956) e Gerchakov & Hatcher (1972). Concentrações de Carboidrato serão calculadas através das curvas de calibração de D-glicose (de 10 a 200 µg/ml). As frações atuais de carboidratos hidrolisados (HCHO) serão obtidas pela diferença entre as concentrações de carboidrato determinadas no sobrenadante de amostras contendo enzimas e a fração solúvel do controle. Concentrações de carboidrato total de sedimentos intactos (TCHO) e concentração de HCHO serão normalizados para peso seco de sedimento.

### **6.8.3. QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDIOS**

O procedimento utilizado para digestão de proteína também foi levado para análise da fração de lipídios sedimentares hidrolisáveis por um tratamento de lipase (riaciglicerol lipase, EC 3.1.1.3 Sigma-Aldrich).

Porém, concentrações de lipídios hidrolisados enzimaticamente eram muito baixas (<10 µg g na 5mm camada de sedimentos coletada em setembro de 1996) e não identificada abaixo de 5 mm de profundidade e nos outros períodos amostrados. Como certa fração de lipídios é hidrofóbica, estes resultados poderiam ser influenciados pela ineficiência do passo de lavagem removendo lipídios hidrolisados enzimaticamente. As dificuldades que nós achamos no ataque enzimático são consistentes com resultados de Santos *et al.* (1994) que informaram grandes quantidades de lipídios associadas à fração mais obstinada de MO sedimentar em sedimentos PAP. Nossos resultados são consistentes com os informados por Galeron *et al.* (2001) que acharam um conteúdo muito baixo de ácidos graxos (400 a 6000 ng/g) analisados por cromatografia gasosa/espectrofotometria de massa. Lipídio total foram extraídos de amostras de sedimento por "elution" direta com clorofórmio e metanol (1:2 v/v) seguindo o procedimento de Bligh & Dyer (1959) e analisado de acordo com Marsh & Weinstein (1966). Todas as análises foram realizadas em 3 a 4 réplicas por sedimento. Foram utilizados os mesmos sedimentos previamente tratados a 550°C por 4 h os quais foram utilizados como branco. Concentrações de lipídios foram calculadas por curvas de calibração de tripalmitina (5 a 100 µg/ml) e normalizadas a peso seco de sedimento.

#### **6.8.4. CARBONO BIOPOLIMÉRICO E CARBONO DETRÍTICO**

O carbono biopolimérico e o carbono detrítico de acordo com o método de Dell'Anno *et al.* (2002) serão calculados a partir das concentrações dos biopolímeros. E a análise qualitativa da atividade respiratória será feita de acordo com Alef & Nannipieri (1995).

Carbono Orgânico Biopolimérico e Biodisponível. Carbono orgânico biopolimérico (CPB; sensu o Fabiano *et al.* 1995) foi definido como a soma

dos equivalentes de carbono de carboidrato totais, proteínas e lipídios (utilizando fatores de conversão de 0.4, 0.49 e 0.75, respectivamente).

Carbono orgânico biodisponível (COBA) foi definido como a soma de carbono equivalentes de carboidrato de hidrolisáveis e proteínas, assumindo a contribuição desprezível de lipídios hidrolisáveis.

## **6.9. ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS (SEDIMENTOS SUPERFICIAIS)**

Para a determinação das concentrações de hidrocarbonetos (benzeno, fenantreno, tolueno, naftaleno, xileno e benzo[*a*]pireno) foi realizada a técnica de cromatografia líquida da alta eficiência (CLAE) com detector de UV (256nm) por HPLC (Shimadzu LC-10 AT VP), no Laboratório de Orgânica da Companhia Siderúrgica Nacional.

Para a solução padrão pesou-se 0,1g (100mg) de cada HPA, dissolvendo em acetonitrila e completando o volume a 10 ml em balão volumétrico. Dilui-se 1,0 ml de cada solução estoque a 100 ml com acetonitrila (10ug), preparando individualmente diluições adequadas dos padrões em acetonitrila, determinando assim a faixa ótima de trabalho.

A extração inicia-se com a homogeneização da amostra, adicionando-a a um funil de separação 60 ml de diclorometano agitando vigorosamente por um período mínimo de 2 minutos. Aguardar por um tempo de 15 minutos para a separação das fases orgânica (inferior) e inorgânica (superior). Filtra-se a fase inferior mais o resíduo contido no funil de separação através de um funil de vidro analítico, contendo papel de filtro e sulfato de sódio anidro, recebendo o filtrado em um frasco erlenmeyer, transferem-se os extratos contidos no erlemeyer para o frasco concentrador e adiciona-se 5 ml de acetonitrila conectando o frasco concentrador ao aparelho evaporador rotatório. Imergir o frasco no banho-maria até cobrir o extrato contido no frasco concentrador, ajustando o

reostato do banho-maria do evaporador rotatório para a temperatura de  $50 \pm 1^\circ\text{C}$  em velocidade média e utilizar vácuo a 60 mm de Hg. Destilam-se os extratos até a concentração do volume a 1,0 ml. Em seguida transfere-se o concentrado para uma seringa de vidro e assim transfere-se o concentrado da seringa filtrando-o para um frasco cônico com tampa. Na elaboração deste padrão, foram consultados os seguintes documentos: Method 610 - E.P.A. (Environmental Protection Agency) - Determinação de Hidrocarboneto Aromático Polinuclear em água e Method 6440 - B - E.P.A. (Environmental Protection Agency) - Método de extração líquido líquido em água e Padrão CSN N3 PR 120815 – Operação do aparelho de cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

## **6.10. DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS EM SEDIMENTOS DE MANGUE (TESTEMUNHOS)**

### **6.10.1. DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE DETECÇÃO EM JANELA**

Este método se baseia na excitação dos HPAs em comprimento de onda fixo e a detecção em quatro comprimentos de ondas diferentes (A, B, C e D). Um método de maior seletividade foi obtido, pois embora a razão área de sinal/concentração de cada HPA seja diferente em cada janela de emissão, ela deve ser a mesma para amostras e padrões, salvo no caso de coeluição quando pode ser modificada em uma das janelas.

Na Tabela 7 é mostrada a programação empregada para a detecção dos HPAs pelo método de janela. A Figura 22 mostra um cromatograma de uma solução padrão obtido pelo método. Pode-se observar que há picos correspondentes a certos HPAs em mais de uma janela de emissão, em virtude de a emissão ocorrer numa faixa (contínua) de comprimentos de onda.

Tabela 7 – Programação do detector de fluorescência para determinação dos HPAs.

Ordem	Tempo (min)	Excitação (nm)	Emissão A (nm)	Emissão B (nm)	Emissão C (nm)	Emissão D (nm)	HPA
1	0:00	224	332	336	400	432	
2	6:00	210	332	336	400	432	naftaleno
3	7:10	210	332	320	340	336	
4	9:00	210	332	320	340	336	Acenafiteno, fluoreno
5	12:50	220	364	452	404	388	fenantreno; antraceno
6	16:50	220	452	402	398	388	Fluoranteno; pireno;
7	18:50	265	398	392	388	400	benzo[a]antraceno,
8	20:90	265	398	392	388	400	criseno
9	22:50	290	440	444	447	432	benzo[a]pireno benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno
10	27:50	290	400	404	408	420	
11	28:00	275	480	484	500	466	dibenzo[a,h]antraceno benzo[g,h,i]perileno
12	30:40	275	480	484	500	466	indeno[1,2,3-cd]perileno

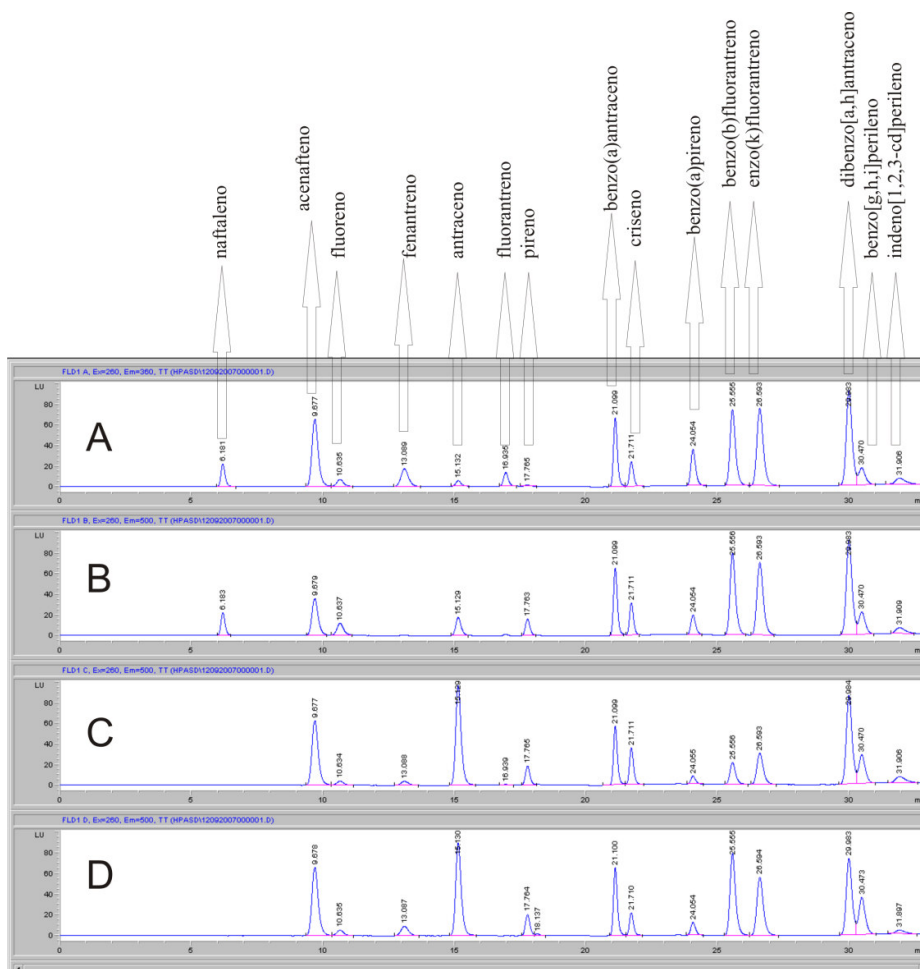


Figura 22 - Cromatograma de uma solução padrão obtida através do método de janela.

### 6.10.2. REAGENTES, SOLVENTES E PADRÕES

Água ultrapura foi obtida em um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, EUA) após destilação. Os padrões de HPAs foram preparados em acetonitrila a partir da diluição de solução dos 16 EPA-HPAs com concentração de 200 mg/L (AccuStandard, EUA). Os solventes utilizados no processamento das amostras foram de grau HPLC ou espectroscópico conforme indicado na tabela 8.

Tabela 8 - Solventes utilizados neste trabalho.

REAGENTE	FABRICANTE	ESPECIFICAÇÕES
Acetonitrila	Tedia, Brasil	Grau HPLC / Spectro
Diclorometano	Tedia, Brasil	Grau Pesticida

### 6.10.2.1 INSTRUMENTOS E MATERIAIS

Os materiais e instrumentos empregados estão listados na tabela 9.

Tabela 9 - Materiais e instrumentos utilizados.

Material/Instrumento	Especificação	Fabricante
Agitador magnético	Q-261-12	Quimis, Brasil
Agitador Vortex	AP 56	Phoenix, Brasil
Balança analítica	Série GR, modelo GR-202	AND, Japão
Coluna	C18 (4.6mm x 5 micron x 250mm)	Vydac, EUA
Pré-coluna para CLAE	C18 (4.6mm x 5 micron x 12,5mm)	Vydac, EUA
Cromatógrafo a Líquido de Alta Eficiência com Detetor por Fluorescência	Série 1100	Agilent, EUA
Estação de trabalho	Versão 5.0	Agilent, EUA
Estufa	Modelo 3	Icamo, Brasil
Evaporador Rotatório à vácuo	MSM 120	MS Mistura, Brasil
Micropipetas de volume fixo e/ou variável e ponteiras	50, 100, 250, 500 e 1000 µL	Gilson, França
Sistema de purificação de água	Simplicity 185	Millipore, EUA

### 6.10.3. MÉTODOS

#### 6.10.3.1. METODOLOGIA UTILIZADA

Para a determinação dos HPAs nas amostras de sedimento seguiu-se as seguintes etapas, amostragem e armazenagem, extração, pré-concentração e identificação / quantificação. Estas etapas serão descritas a seguir.

#### 6.10.3.2. AMOSTRAGEM E ARMAZENAGEM



Os sedimentos dos testemunhos foram coletados com pá de inox previamente descontaminada, sendo armazenado em frasco de vidro que foi completamente preenchido com a amostra.

A amostra de sedimento foi peneirada e armazenada em frasco de vidro e mantida sob refrigeração a 4°C.

Antes da pesagem do solo para a extração, o frasco era deixado fora da geladeira até que a temperatura ambiente fosse obtida e então era movimentado para frente e para trás ao longo do recipiente, alternando os seus lados opostos para completa homogeneização da amostra.

#### **6.10.3.3. EXTRAÇÃO**

A extração dos HPAs presentes nos sedimentos foi feita com ultra som, utilizando-se diclorometano como solvente de extração.

Para a extração das amostras, 3g de sedimento foram pesados em recipiente de vidro âmbar. Após adição de 20 mL de diclorometano a cada um dos recipientes, estes eram cobertos com folha de alumínio e submetidos à sonicação em banho de ultra som por 20 minutos. Os sobrenadantes eram transferidos com pipeta para balão de vidro de 125 mL. Este procedimento era igualmente realizado quatro vezes, resultando em um volume total de aproximadamente 80 mL de solvente de extração.

O volume final obtido era evaporado até aproximadamente 3 mL em evaporador rotatório à temperatura de 30-34 °C, efetuando-se a troca do solvente para acetonitrila. O volume era reduzido a aproximadamente 1 mL e o volume ajustado para 2 mL gravimetricamente, considerando-se a densidade da acetonitrila para ajuste do volume final. Os cuidados experimentais nesta etapa se referem à temperatura do banho e a pressão da bomba de vácuo, que foram ajustados para minimizar perdas dos analitos de interesse. Esta solução era filtrada em filtro de Millipore (25 mm; 0.25

µm) e transferida para um vial âmbar de 2 mL e homogeneizado em vórtex para posterior injeção no cromatógrafo a líquido.

#### **6.10.3.4. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA**

Uma coluna de fase reversa (octadecilsílica – Vydac) e pré-coluna Vydac foram utilizadas na separação dos HPAs estudados. Misturas de acetonitrila e água em diferentes proporções foram utilizadas como fase móvel.

A separação dos HPAs foi realizada por cromatografia a líquido de alta eficiência e detecção por fluorescência (CLAE-FLUO) em sistema Agilent série 1100, dotado de bomba quaternária, degaseificador, injetor automático, forno para colunas e detector de fluorescência. Uma estação de trabalho Agilent foi usada para aquisição de dados e controle do sistema CLAE-FLUO.

Para verificar a ordem de eluição dos HPAs e determinar seus tempos de retenção, soluções contendo cada uma destas substâncias foram injetadas no sistema de CLAE-FLUO e seus tempos de retenção determinados. A composição da fase móvel e sua vazão foram modificadas de modo a separar todos os 16 HPAs estudados.

Os HPAs foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos picos cromatográficos com os de soluções conhecidas. A quantificação dos HPAs foi realizada pelo método do padrão externo, comparando-se as áreas destas substâncias nos extratos com as equações de curvas de calibração.

A determinação dos HPAs foi realizada utilizando os comprimentos de onda máximos de excitação ( $\lambda_{exc}$ ) e de emissão ( $\lambda_{em}$ ), previamente avaliados no estudo de soluções individuais. Estes comprimentos de onda foram utilizados com a finalidade de se obter a maior sensibilidade possível.

Esta técnica por janelas de detecção, onde a detecção é realizada simultaneamente em quatro comprimentos de onda (excitação e emissão) diferentes, pois nem todos os HPAs emitem fluorescência nos mesmos comprimentos de onda, leva a uma perda na sensibilidade, porém com ganho de seletividade.

#### **6.10.3.5. OTIMIZAÇÃO DA SEPARAÇÃO DE HPAs**

Uma coluna de octadecilsílica foi usada na separação dos HPAs. Acetonitrila (ACN) e água ultrapura foram usadas como solventes de eluição. O volume injetado foi 20 µL e a coluna foi mantida à temperatura ambiente.

A separação dos HPAs foi otimizada a partir de soluções contendo quatro HPAs com pesos moleculares diferentes e que foram injetados em fase móvel composta de 50 % ACN e 50% água. A primeira solução continha naftaleno, antraceno, benzo[b]fluranteno e indeno[1,2,3-c,d]pireno. Naftaleno e indeno[1,2,3-c,d]pireno foram estudados neste grupo pelo fato de serem o primeiro e último HPAs eluídos nas condições usadas (JOSEPH, Varian Application Note). O tempo total da corrida cromatográfica foi em torno de 45 minutos. Em seguida foram injetados mais dois grupos de HPAs (acenafteno, benzo[a]antraceno, benzo[k]fluranteno, dibenzo[a,h]antraceno) e (fenantreno, pireno, fluoranteno, benzo[a]pireno) (Fig. 20).

Os cromatogramas e os tempos de retenção foram comparados para verificar as separações. Na injeção do último grupo de HPAs (fluoreno, criseno, benzo[e]pireno, benzo[ghi]perileno), verificou-se co-eluição de certos HPAs.

Um gradiente de solventes foi otimizado para obter a maior resolução possível de todos os HPAs (Tab. 10). Com isso o tempo total da corrida foi reduzido a cerca de 30 minutos com boa resolução dos 16 HPAs (Fig. 8).

Tabela 10 - Gradiente de eluição utilizado na separação dos HPAs.

Tempo (min)	% Acetonitrila	%Água
0	50	50
10	50	50
20	85	15
25	85	15
28,5	95	5
31	50	50

#### 6.10.3.6. CONSTRUÇÃO DE CURVAS ANALÍTICAS

Foram construídas curvas analíticas na faixa de 2 a 100 µg/L para cada HPA de interesse para avaliação dos parâmetros analíticos do método cromatográfico, como o coeficiente angular, o coeficiente linear, o coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>), o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ).

As curvas foram ajustadas pelo método dos mínimos quadrados à Equação 1. Os valores obtidos para cada HPA estão apresentados na Tabela 11.

$$\text{Área/pico} = a \text{ CHPA} + b \quad (\text{Equação 1})$$

onde a é o coeficiente angular e b o coeficiente linear para cada HPA.

É possível verificar que foram obtidos ótimos coeficientes de determinação entre áreas e concentrações, indicando excelente linearidade na faixa estudada.

Tabela 11 - Parâmetros das curvas analíticas dos HPAs.

HPAs	Coeficiente angular (a)	Coeficiente linear (b)	Coeficiente de determinação (R <sup>2</sup> )
Naftaleno	3,0	0,3	1,0000
Acenafteno	3,4	-1,5	0,9999
Fluoreno	27,7	-5,9	0,9999
Fenantreno	7,5	1,0	1,0000
Antraceno	39,1	2,9	1,0000
Fluoranteno	2,8	-0,9	0,9993
Pireno	7,8	-0,5	1,0000
Benzo[a]antraceno	14,8	-7,2	0,9999
Criseno	16,9	-7,7	0,9999
Benzo[e]pireno	4,5	-2,1	0,9998
Benzo[b]fluranteno	13,6	-2,0	1,0000
Benzo[k]fluranteno	41,6	2,9	1,0000
Benzo[a]pireno	23,7	-3,6	1,0000
Dibenzo[a,h]antraceno	1,7	-1,7	0,9973
Benzo[ghi]perileno	3,9	-2,4	0,9999
Indeno[1,2,3-cd]pireno	2,8	-1,2	1,0000

### 6.10.3.7. LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Segundo a Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003, a definição para limite de detecção (LD) estabelece que “limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas”, ou seja, o LD é a menor concentração de um dado analito que se pode detectar por determinado procedimento (Miller & Miller 1989).

A mesma Resolução estabelece que “o limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada

com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas”.

O LD é normalmente definido como a concentração de analito que gera uma resposta significativamente diferente (três desvios padrão) da resposta do branco. No entanto, em cromatografia, a medida do branco é inconveniente e difícil porque a resposta do branco é extremamente baixo, (Miller & Miller 1989) então, o limite de detecção foi calculado com base nos DP da triplicata do padrão mais diluído (2 µg /L).

Os LD e os LQ foram determinados através das curvas analíticas de cada HPA, considerando as Equações 2 e 3 respectivamente (Miller e Miller, 1989).

$$LD = \frac{3 \times DP}{a} \quad \text{(Equação 2)}$$

$$LQ = \frac{10 \times DP}{a} \quad \text{(Equação 3)}$$

Onde *a* representa os coeficientes angulares de cada curva analítica.

A Tabela 12 apresenta os desvios padrão assim como os limites de detecção e de quantificação, podendo ser observado que estes valores são adequados para a determinação de todos os HPAs nas amostras sedimentos.

Tabela 12 - Limites de detecção e quantificação para os HPAs.

HPAs	LD (µg/g)	LQ (µg/g)
Naftaleno	0.5	1,6
Acenafteno	0.2	0,8
Fluoreno	3.8	1.6
Fenantreno	1.3	4,2
Antraceno	0.2	0,6
Fluoranteno	0,4	1,4
Pireno	0,3	0,8
Benzo[a]antraceno	1,3	4,2

Criseno	0,4	1,3
Benzo[e]pireno	0,3	1,0
Benzo[b]fluranteno	1,9	6,2
Benzo[k]fluranteno	0,3	0,9
Benzo[a]pireno	0,5	1,8
Dibenzo[a,h]antraceno	1,2	4,0
Benzo[ghi]perileno	0,2	0,8
Indeno[1,2,3-cd]pireno	1,1	3,8

Os limites de detecção e de quantificação da Tabela 12 atendem aos requisitos estabelecidos pelos valores orientadores para solo no Estado de São Paulo para HPAs.

#### **6.10.3.8. AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DO MÉTODO**

Para a avaliação do método foi utilizado sedimento padrão NIST. Esse padrão foi submetido ao mesmo procedimento analítico das amostras reais e permitiram avaliar a porcentagem de recuperação do método.

Nesta avaliação foi usado o método de detecção nos máximos de excitação e de emissão.

A Tabela 13 apresenta a eficiência do método analítico para a determinação dos HPAs com valores de recuperação (%REC).

Como podem ser observados, os valores das recuperações do material certificado foram elevados e apresentaram valores com médias entre 71 a 189 %. E os valores para solução padrão de HPAs de 100ppb variaram de 83 a 122 %.

Tabela 13 - Resultados obtidos das porcentagens de recuperação para a extração dos HPAs.

HPAs	0.5 µg/g	
	%Rec. Material Certificado	%Rec. Sol. 100 pbb
Naftaleno	73	85
Acenafteno	189	97
Fluoreno	92	103
Fenantreno	80	101

Antraceno	73	95
Fluoranteno	130	83
Pireno	97	100
Benzo[a]antraceno	88	117
Criseno	101	100
Benzo[e]pireno	99	97
Benzo[b]fluranteno	108	98
Benzo[k]fluranteno	93	100
Benzo[a]pireno	86	102
Dibenzo[a,h]antraceno	152	122
Benzo[ghi]perileno	71	108
Indeno[1,2,3-cd]pireno	81	120

A diferença determinada nas recuperações ocorreram pois o sedimento padrão NIST é feito de partículas muito finas que possuem interferentes, já a solução de 100ppb é feita partir de soluções de HPAs líquidas xistindo assim menos interferentes na extração, dessa forma obteve-se melhores recuperações em amostras líquidas.



## Capítulo 7

### RESULTADOS

Na tabela 14 seguinte, apresentamos as coordenadas dos pontos, dados de condutividade e uma pequena descrição da flora e característica visuais dos sedimentos.

Tabela 14 – Coordenadas dos sedimentos amostrados, condutividade e características visuais de plantas e sedimento.

Estações	Latitude	Longitude	Eh mV	VEGETAÇÃO	SEDIMENTO
PT 1	694194	7489255	-353	Avicennia	lama preta - topo oxidado
PT 2	694177	7489271	-166	Avicennia	lama siltosa
PT 3	694110	7489221	-0,78	Laguncularia	areia fina lamosa
PT 4	694263	7489393	-140	Rhizophora - Avicennia	lama fina
PT 5	694170	7489409	-230	Avicennia - Laguncularia	lama
PT 6	694119	7489349	-0,10	Fora de mangue	areia lamosa
PT 7	694085	7489344	-210	Avicennia	lama siltosa compacta
PT 8	694075	7489332	0,30	Fora de mangue	areia grossa
PT 9	694214	7489535	-330	Rhizophora - Laguncularia	lama
PT 10	694169	7489506	0,60	Rhizophora	lamosa com frag. de conchas
PT 11	694118	7498474	-150	Avicennia	lamosa
PT 12	694062	7489439	-0,60	Rhizophora - Avicennia	lamosa
PT 13	694021	7489380	-210	Avicennia	lamosa
PT 14	694200	7489658	-250	Rhizophora	lamosa - muito óleo
PT 15	694140	7489618	-220	Rhizophora - Avicennia	lamosa
PT 16	694086	7489981	-250	Rhizophora - Avicennia	lamosa
PT 17	694026	7489938	-250	Rhizophora	lamosa
PT 18	693967	7489497	0,30	Fora de mangue	Arenosa
PT 19	693910	7489579	-350	Avicennia	Areia Lamosa
PT 20	693991	7489636	0,80	Laguncularia	lamoso
PT 21	694056	7489682	-200	Laguncularia	lamoso
PT 22	694114	7489722	-305	Rhizophora	lamoso
PT 23	694162	7489754	-250	Laguncularia	lamoso

## 7.1 SURFICIAL DISTRIBUTION OF AROMATIC SUBSTANCES AND GEOMICROBIOLOGY OF SEDIMENTS FROM SURUÍ MANGROVE, GUANABARA BAY, RJ, BRAZIL

Luiz Francisco Fontana<sup>1\*</sup>, Frederico Sobrinho da Silva<sup>2</sup>, Natália Guimarães de Figueiredo<sup>3\*</sup>, Daniel Mares Brum<sup>3\*\*</sup>, Annibal Duarte Pereira Netto<sup>3\*\*\*</sup>, Alberto Garcia Figueiredo Junior<sup>1\*\*</sup>, Mirian Araújo Carlos Crapez<sup>4</sup>.

1 – PPG em Geologia e Geofísica Marinha, Universidade Federal Fluminense. Av. General Milton de Tavares de Souza, s/nº - 4º andar – Campus da Praia Vermelha - Gragoatá, Niterói, RJ, Brasil. CEP 24210-340. \*lffontana@hotmail.com; \*\*alberto@igeo.uff.br.

2 - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Geologia. Av. Athos da Silveira, 274 (prédio do CCMN), bloco J, sala JI20, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, CEP 21949-900 - Rio de Janeiro, RJ – Brasil. fred@geologia.ufrj.br

3 - PPG em Química, Universidade Federal Fluminense. Outeiro de São João Batista, s/n, Valonguinho, Centro – Niteroi, RJ, Brasil. CEP 24020-150. \*natalinhagf@hotmail.com; \*\*daniel.brum@ufv.br; \*\*\*annibal@vm.uff.br.

4 - PPG em Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Cx postal: 100.644, Niterói, RJ – Brasil – 24001-970 \*\*E-mail: mirian@vm.uff.br

Palavras Chaves: Atividade Microbiológica, Baía de Guanabara, Biopolímeros, Fenol, Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos e Monoaromáticos.

Keywords: Aromatic Polycyclic Hydrocarbons, Biopolymers, Guanabara Bay, Microbiologic Activity, Monoaromatics and Phenol.

Titulo abreviado/running title: Hydrocarbons and Geomicrobiology of Suruí Mangrove.

*Submitted: Annals of the Brazilian academy  
of Sciences.*

Secção da Academia: Earth Sciences/Ciências da Terra

Autor correspondente/Correspondence to: Luiz Francisco Fontana – Rua Doutor Paulo Alves, nº: 126, aptº: 1105, Ingá - Niterói, RJ. CEP: 24210-445. Tel: 21-27042538 – Cel: 21-81332061. lffontana@hotmail.com.

## ABSTRACT

The distribution of selected aromatic substances and microbiology were assessed in superficial sediments from Suruí Mangrove, Guanabara Bay. Were collected from 23 states and analyzes of particles size, organic matter, aromatic substances, microbiology activity, biopolymers, topography were determined. Concentration of aromatic substances was distributed in patches over the entire mangrove and their highest total concentration was found in the mangrove's central area. Particles size differed from most mangroves in that Suruí Mangrove has *chernies* on the edges and in front of the mangrove and sand across the whole surface, hampering the relationship between granulometry and hydrocarbons. An average  $\cong 10\%$  p/p of organic matter was obtained and biopolymers presented high concentrations, especially in the central and back areas of the mangrove. The biopolymers were distributed in high concentrations. The presence of fines sediments is an important factor in hydrocarbon accumulation. With the high concentration of organic matter and biopolymers, and the topography with *chernies* and roots protecting the mangrove, calmer areas are created, with deposition of material transported by wave action. Compared to global distributions, concentrations of aromatic substances in Suruí Mangrove may be classified from moderate to high, showing that the studied area is highly impacted.

## RESUMO

A distribuição de substâncias aromáticas selecionadas e a microbiologia foram avaliadas em sedimentos superficiais do Manguezal de Suruí, Baía de Guanabara. Foram coletados 23 pontos e determinados a granulometria, matéria orgânica, substâncias aromáticas, atividade microbiológica, biopolímeros e a topografia. A concentração das substâncias aromáticas foi distribuída em manchas por todo o manguezal e sua concentração total mais elevada foi encontrada na área central do manguezal. A granulometria diferiu da maioria dos manguezais, no Manguezal de Suruí existem *chernies* nas bordas e na frente dos manguezais e areia através da superfície inteira, impedindo o relacionamento entre granulometria e os hidrocarbonetos. Uma média de 10% p/p da matéria orgânica foi obtida e os biopolímeros apresentaram concentrações elevadas, especialmente na área central e fundo do Manguezal. Os biopolímeros se distribuíram em altas concentrações. A presença de finos é fator importante na acumulação de hidrocarbonetos. A concentração elevada de matéria orgânica e de biopolímeros, topografia com *chernies* e as raízes que protegem os manguezais, áreas mais calmas são criadas, com depósito do material transportado pela ação das ondas. Comparado às distribuições globais, as concentrações das substâncias aromáticas neste manguezal pode ser classificada como moderada a elevada, demonstrando que a área estudada está altamente impactada.

## INTRODUCTION

The increase of human activity near the shores has led to serious pollution problems. Mangrove ecosystems, commonly found in the intertidal zones of tropical and subtropical regions, are frequently subjected to pollution stress and are dissipaters or receptors for various pollutants (Tam and Wong 1999; Zheng *et al.* 2000).

The effects of large, or even chronic, oil spills have been studied at different levels, from whole ecosystems down to more specific physio-metabolic processes. It has been observed that biological damages to aquatic organisms are a function of their spatial-temporal persistence, hydrocarbon bioavailability, the ability of each group to accumulate in the environment and the contaminants' capacity to interfere with the normal metabolism of organisms or communities (GESAMP 1993).

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are an important class of organic pollutants and are ubiquitous in the environment (Pereira Netto *et al.* 2000). Because of the carcinogenic properties of some of them, as tested in animals, and their wide occurrence, these substances have attracted much attention (Ohkouchi *et al.* 1999; Zakaria *et al.* 2002; Mai *et al.* 2003; Kannan *et al.* 2005). PAHs are introduced in the aquatic environment through accidental oil spills, industrial discharges (both municipal and urban), atmospheric precipitation, superficial drainage etc. In these ecosystems PAHs, due to their hydrophobic structures, become preferentially adsorbed in the sediment.

Contact of organisms with toxic oil fractions may lead to death by intoxication, especially associated to monoaromatic hydrocarbon fractions. Among the most toxic components are benzene, toluene and xylenes. These substances are considerably soluble in water (especially benzene), which makes marine organisms more vulnerable to them, since they absorb these compounds through tissues, gills, or by direct

ingestion of water or by contaminated food. These hydrocarbons present intense acute toxic effects, especially due to their high solubility and resulting bioavailability (GESAMP 1993).

Among the monoaromatic hydrocarbons, benzene is the most harmful compound, with well-known carcinogenic properties, and it is classified as carcinogenic to humans (IARC 2007). The other monoaromatic hydrocarbons (toluene, xylenes and ethylbenzene) are less toxic (IPCS 1996, 1997), but they are of concern at least because they add odor or taste to water at ppm concentrations (Day *et al.* 2001)

BTXs (acronym for the set benzene, toluene and xylene) frequently kill meroplankton, ichthyoplankton or other life stages of organisms subjected to them in the water column, even at concentrations lower than 5mg/l. In addition to the toxic action of petroleum hydrocarbons and other chemical components, oil pollution may physically suffocate marine organisms (Kennish 1997).

Many minor fuel components are of interest due to their toxicology. This is the case of PAHs and BTX that have been studied in many media including air, water and soil (IPCS 1998; Menchini *et al.* 1999; Monod *et al.* 2001; Pereira Netto *et al.* 2002, 2004; Rego and Pereira Netto, 2007).

Mangroves are also rich in polyphenols and tannins (Kathiresan and Ravi 1990; Ravi and Kathiresan 1990; Achmadi *et al.* 1994). As far as the chemical aspects go, the presence of functional groups like carboxyls and phenolic hydroxyls makes the HS (humic substances) take on a polyelectrolytic role and act as complexing agents of metallic ions (Saar and Weber 1982; Alloway 1990).

Intrinsic features of mangroves, such as high organic matter and sulfide contents, the anoxic condition of the surficial sediment layer, the environment's low energy character and the reduced current flow, favor deposition and accumulation of

contaminants. High concentrations of heavy metals, PCBs and PAHs have been recorded in mangrove sediments, persisting for many years (Tam and Wong 1999, 2000; Tam and Yao 2002; Zheng *et al.* 2002). The aim of this study is to quantify the contamination by selected aromatic compounds (ACs) (phenol, benzene, toluene, xylenes, naphthalene, phenanthrene and benzo[a]pyrene) at Suruí Mangrove, Guanabara Bay, Brazil, in order to identify possible deposition sites and assess the relation slup between these concentrations and other variables related to the region's microbiological characteristics, such as electron transport system activity, esterase activity, bacterial organic carbon, biopolymers (carbohydrates, proteins and lipids) and also environmental features such as particle size, organic matter and topography.

## MATERIALS AND METHODS

### DESCRIPTION OF STUDY AREA

The Suruí River mangrove is located in Magé Municipality (7.489.800 S, 694.280 W), spanning approximately 80.000 – 100.000 m<sup>2</sup>. Because of it is located in the north of the Guapimirim Environmental Protection Area (APA), it shares features with the zone termed *Norte-APA de Guapimirim* (Fig. 1).

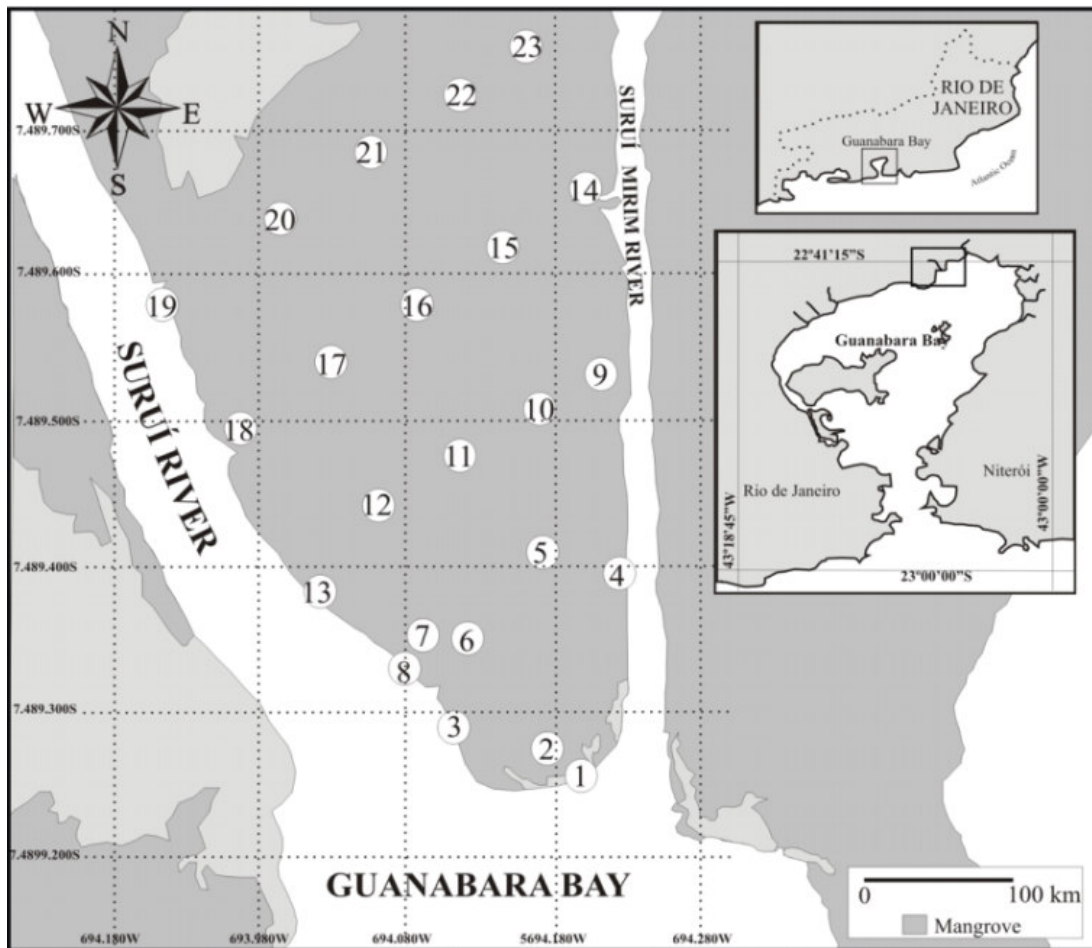


Figure 1 - Suruí Mangrove (sampling grid).

Suruí Mangrove is bound by Morro da Solina to the west and by the RJ-116 highway to the north. Its importance increases by the presence of the Suruí River and the Suruí-Mirim Channel, both acting in some parts as boundaries of the Guapimirim APA, and by the fact that they flow into Guanabara Bay (Soares *et al.* 2006).

Like most rivers in the region, they are constantly flooded and have predominantly flat topography, close to sea level, which generates the development of mangroves and the presence of *chernies* at the edges and fringe.

Water flow through the mangrove is reduced by mangrove plants, characterizing complex current patterns, including jets, eddies and stagnant zones. The flow of

suspended sediment shows that most of it returns and settles in the mangrove itself, and is not reexported (Furukawa *et al.* 1997).

Suruí Mangrove's predominant plant species along most of the Suruí River's 3,600 m (from Suruí to the mouth) is the white mangrove (*Laguncularia racemosa*). There are also, interspersed, a few clusters of black mangrove (*Avicennia schaueriana*), with their pneumatophores. Closer to the mouth area some clusters of red mangrove (*Rhizophora mangle*) occur, with their buttress roots. The mangrove is under strong anthropic pressure, since due to the tidal regime it is possible to find, all around it, garbage that invades it by the fringe. The predatory practice of catching crabs with raffia sacks next to the burrows, and the indiscriminate tree logging, landfilling, draining and deforesting alter hydrological conditions and, consequently, mangrove functioning, thus hampering management and conservation and constituting a great impact over the Guapimirim APA mangroves (Soares *et al.* 2006).

Just like the two other zones to the north of the APA, environmental management of this zone also calls for close follow-up, since it represents a significant 10% of its urbanized area, with low settlement intensity. Forest cover is practically nonexistent (just 0.2%). These percentages point to strong indications of deforesting near the preservation area, a process that ought to merit compensation. More auspiciously, 16.6% of the area is constituted by conserved mangrove, against 0.21% of degraded mangrove. The wetlands and flooded areas together represent 12.1%, which indicates the possibility of actions directed at mangrove regeneration too (Egler *et al.* 2003).

The 2000 oil spill was one of the most severe ever recorded in Guanabara Bay, hitting several ecosystems in the region. It was the second accident in the same pipeline, which had already leaked in 1997, caused by the rupture of a Duque de Caxias Refinery (REDUC) oil pipeline. According to Petrobras estimates, a total of about 1,300 m<sup>3</sup> of



crude leaked, of which 25% (325 m<sup>3</sup>) evaporated, 40% (520 m<sup>3</sup>) was recovered and the rest (455 m<sup>3</sup>) was retained in mangroves and rocky shores (Mitchell 2000).

#### SEDIMENT COLLECTION AND SAMPLING GRID

About 150 g of superficial sediment was collected at each point in a sampling grid comprising 23 sampling station along Suruí Mangrove (Fig. 1). Sediments were collected from a layer of 2-3 cm deep, without damaging the sedimentary layers, housed in aluminum trays and placed in thermal boxes to be transported to the laboratory.

#### TOPOGRAPHY

For the topographical survey the Trimble model 3305 class 2 (medium precision) Total Station was used, with 5" angular precision and 2mm ± 2ppm linear precision. Georeferencing was done with GPS receptors, Astech model ProMark2, with 5mm ± 1ppm linear precision and 10mm ± 2ppm altimetric precision. Topographic survey was made from closed polygon with 19 vertices and supported on two auxiliary stations with GPS receptors, the points' plain coordinates ploughs in the UTM system, UTM, SAD 69, MC = 45° w degrees with orthometric altitudes. The data of closing of the polygon plough shown in Table 1.

Table 1 Data of closing of the polygon:

Polygon	Data of Closing
Angular closing	0°01'55"
Linear closing	0,176 m
Difference in E	-0.176 m
Difference in N	-0.005 m
Altimetric difference	-0.003 m
Relative precision	1: 6.793
Length of the polygon	1.195.294 m
Number of vertices	19

#### PARTICLE SIZE ANALYSIS

Sandy fractions (>0.062 mm) were sieved using sieves with 0.5 phi intervals. The Wentworth scale was used for classification. Muddy fractions (<0.062 mm) were analyzed by the pipette method (Suguio 1973). The particle size classification followed was proposed by Flemming (2000), which is restricted to fine sediments (<0.062 mm). It employs the triangular diagram also used by other classification systems (Shepard 1954 and Folk 1968), but with more subdivisions.

#### ORGANIC MATTER

Organic matter (OM) was determined as the difference between sediment dry weight (100°C, 24 h) and weight of the residue after combustion (450°C, 4 h) (Byers *et al.* 1978).

## TOTAL BIOPOLYMERS

Determination of total biopolymers (carbohydrate, lipids and proteins) was performed in triplicate on samples of total wet sediment. All determinations were done by the spectrophotometry method. Carbohydrates (CHO) were quantified according to Gerchacov and Hachter (1972) who, using the same principle as Dubois *et al.* (1956), modified the method for sediment analysis, using glucose as a standard. Lipids (LIP) were extracted with chloroform and methanol and analyzed according to Marsh and Wenstein (1966); tripalmitine was used as the standard. Proteins (PTN) were determined according to the method proposed by Hartree (1972) and modified by Rice (1982), to compensate for phenol interference. Bovine albumin, fraction V (Sigma), was used as the standard.

## TOTAL BIOPOLYMERIC CARBON

Lipids, carbohydrates and proteins were converted into carbon equivalents using 0.75, 0.40 and 0.49 g.C g<sup>-1</sup> conversion factors, respectively (Fabiano and Pusceddu 1998). The biopolymeric carbon fraction (C-BPF) was defined as the sum of carbohydrate, protein and lipid carbon (Fabiano *et al.* 1995).

## TOTAL BACTERIAL CARBON

BC – bacterial carbon was enumerated by epifluorescent microscopy (Axiosp 1, Zeiss, triple filter Texas Red – DAPI – fluorescein isothiocyanate, 1.000 X magnification) and fluorochrome fluorescein diacetate (Kepner and Pratt, 1994). Carbon biomass ( $\mu\text{g C/cm}^3$ ) data were obtained using the method described by Carlucci *et al.* (1986). Fluorochrome fluorescein diacetate allows counting of the viable cells, morphologically differentiated as cocci, rods and spirilla.

#### ESTERASE ACTIVITY

EST – esterase enzyme activity was determined using the method described by Stubberfield and Shaw (1990). It is based on fluorogenic compounds, which are enzymatically transformed into fluorescent products that can be quantified by absorption on a spectrophotometer. These enzymes hydrolyze many polymeric organic matters. The results are expressed in  $\mu\text{g}$  fluorescein/h/g of sediment.

#### ELECTRON TRANSPORT SYSTEM ACTIVITY

ETSA – electron transport system activity was determined using the method described by Hourri-Davignon and Relexans (1989), without a surplus of electron donors (Trevors 1984). It is based on dehydrogenase enzymes, which are the major representatives of oxido-reductase reactions. They catalyze the oxidation of substrates producing electrons that can enter into the cell's electron transport system and can be quantified by UV-visible absorption. The results are expressed in  $\mu\text{l}$   $\text{O}_2$ /h/g of sediment.

#### DETERMINATION OF AROMATIC COMPOUNDS (ACs)

High performance liquid chromatography (HPLC) with an ultraviolet-visible detector (HPLC-UV) was used to determine concentrations of the aromatic substances studied (phenol, benzene, toluene, xylenes, naphthalene, phenanthrene and benzo(a)pyrene). A Shimadzu LC-10 AT VP system was used and detection was performed at 254 nm.

A standard solution of the studied substances was prepared dissolving 100 mg of each substance into a final volume of 10.0 ml of acetonitrile. Next, 1.00 ml of this solution was diluted to 100 ml with acetonitrile. Adequate dilutions of this solution in acetonitrile were prepared for building the calibration curve.

Determination of aromatic substances was undertaken considering the following methods: Method 610 - E.P.A. (Environmental Protection Agency) – Determination of polynuclear aromatic hydrocarbon in water, Method 6440 - B - E.P.A. (Environmental Protection Agency) – Method for liquid extraction in water, and Standard CSN N3 PR 120815 – Operation of high performance liquid chromatography apparatus (HPLC). Quantification limits were better than 0.030 ug/g for all studied aromatic compounds.

### STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analyses were performed utilizing 9 variables with the correlation matrices with the program STATISTICA<sup>®</sup> 7.0 ( $\delta = 0.349$ ). Ward's method with City-block (Manhattan) distance is distinct from all other methods because it uses an analysis of variance approach to evaluate the distances between clusters. In resume, this method attempts to minimize the Sum of Squares (SS) of any two (hypothetical) clusters that can be formed at each step. This distance is simply the average difference across dimensions. In most cases, this distance measure yields results similar to the simple Euclidean distance. However, in this measure, the effect of single large differences (outliers) is dampened (since they are not squared). Nine variables, namely phenol, BTX (sum of benzene, toluene and xylene concentrations), PAH (sum of naphthalene, phenanthrene and benzo[a]pyrene concentrations), percentages of fines and of organic matter (OM), total of carbohydrates (CHO), lipids (LIP) and proteins (PTN) and porosity. Their values at the 23 sampling points are summarized in Table 2.

Table 2. Data summary.

Samples	Phenol	BTX	PAH	Fines (%)	OM (%)	CHO	PTN	LIP	Porosity
1	22.9	47.0	22.0	40.0	6.20	865.6	166	66.5	1.00
2	25.4	15.1	<LQ	31.0	4.40	692.2	204	34.8	0.90
3	5.59	10.2	19.7	11.0	4.90	292	156	139	0.50
4	9.56	8.32	36.8	48.0	6.60	639	127	108	1.20
5	11.4	7.91	<LQ	30.0	5.00	831	190	40.2	1.00
6	18.8	14.4	<LQ	18.0	2.80	398	161	12.4	0.50
7	12.0	13.8	23.9	77.0	17.8	1760	154	154	0.60
8	2.84	3.16	<LQ	3.0	1.20	408	200	19.6	0.40
9	2.35	0.89	<LQ	33.0	6.90	942	118	105	1.10
10	2.54	0.69	<LQ	32.0	12.5	1074	215	55.2	0.60
11	8.16	1.20	266	58.0	22.0	1358	221	117	0.70
12	4.03	0.47	27.8	68.0	16.0	1361	325	121	0.60
13	<LQ	1.24	5.10	13.0	14.2	1022	417	132	0.50
14	1.80	6.55	436	30.0	7.20	1068	344	95.5	1.20
15	3.28	13.6	<LQ	57.0	9.30	1242	396	104	1.20
16	1.67	6.40	192	61.0	18.3	1573	455	92.2	0.70
17	1.97	7.99	32.8	73.0	9.10	1282	656	135	1.20
18	1.41	4.55	<LQ	10.0	5.80	417	487	21.9	0.40
19	1.01	1.58	2.50	28.0	4.60	692	392	30.9	1.00
20	2.18	8.92	<LQ	64.0	20.5	1022	824	106	0.60
21	3.51	15.5	<LQ	87.0	23.3	1113	531	103	0.80
22	1.22	5.94	<LQ	53.0	7.50	768	563	110	1.10
23	2.46	14.1	28.0	18.0	4.30	473	539	88.2	0.90

<LQ – minor quantification limit

## RESULTS

Assessment of mangrove topography was performed on 16 October 2007. Suruí Mangrove comprises an area about 80.000 – 100.000 m<sup>2</sup>. Suruí Mangrove topography features an elevation at the mangrove front reaching 2.3 m and two lower areas ranging from 0.3 to 0.6 cm, one 200-m long on the Suruí River side, the other along the entire Suruí Mirim Channel. At the center and back of the mangrove topography is almost totally flat. This higher area, in front of the mangrove, together with the mangrove plants, protects it from the flow of Guanabara Bay waters. These invade the mangrove when the tide rises, configuring complex current patterns which prevent the reflux of transport waters out of the mangrove, causing the sediment to settle in the flatter areas (Fig. 2).

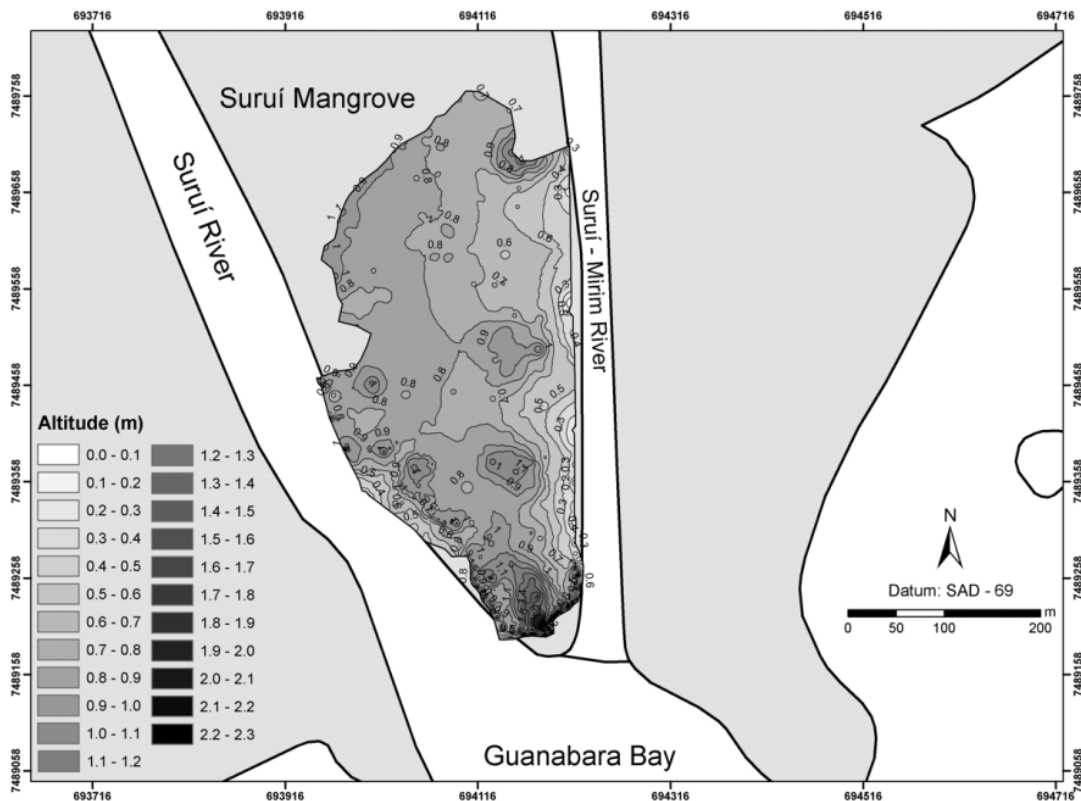


Figure 2 - Suruí Mangrove topography.

The dominant particle size fraction was sand. Most stations presented small percentages of silt. However, samples 4, 7, 11, 12, 15, 16, 20, 21 and 22 presented 30 to 55 % of silt. The highest clay concentrations, around 30%, were found at stations 7, 12 and 17. Station 21 presented 61% clay and station 12 was the only one with more homogeneous grain proportions. According to the classification by Flemming (2000), Suruí Mangrove displayed a variation from sand to very clayey to slightly sandy mud (Fig. 3).

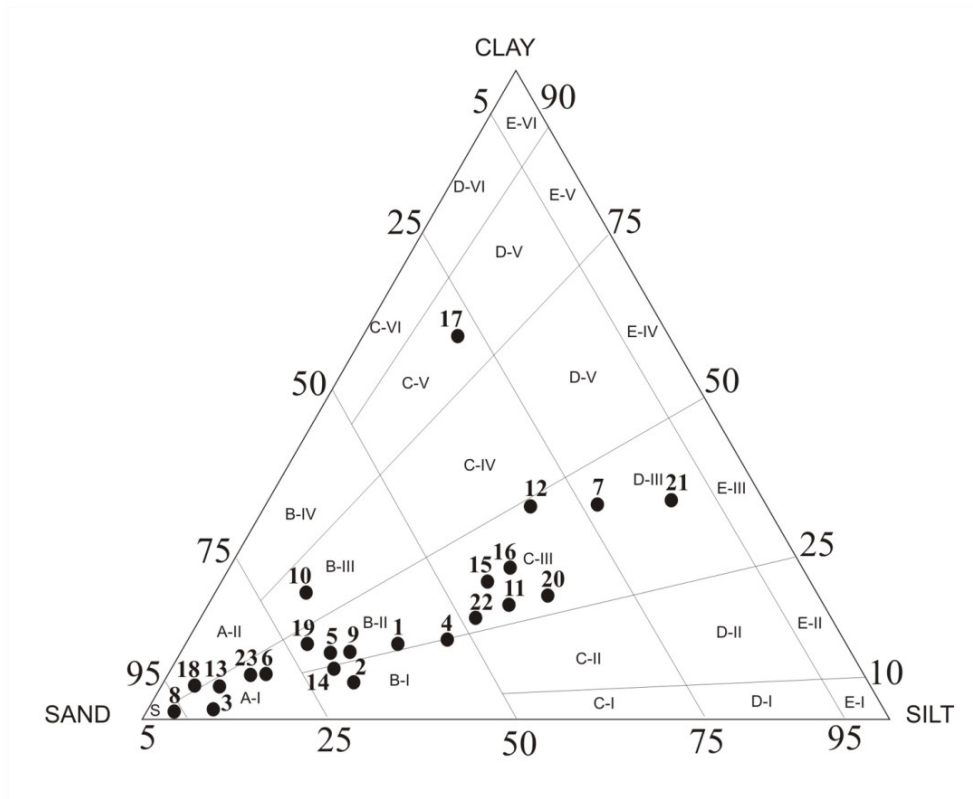


Figure 3 – Triangular diagram of textural classes (Flemming 2000). Subdivisions are based on sand/silt/clay percentages.

Biopolymers were distributed all over the mangrove, varying widely. CHO variation was greater than PTN and LIP, at 398  $\mu\text{g/g}$  and 1760  $\mu\text{g/g}$ , at stations 3 and 7, respectively. PTN ranged from 118 to 220  $\mu\text{g/g}$  at stations 1 to 11, respectively. At stations 12 to 23 there was an increase in PTN concentrations, 325 to 824  $\mu\text{g/g}$ . LIP



varied very little over the whole mangrove. The smallest concentration was observed at station 6 (12.4  $\mu\text{g/g}$ ) and the largest at station 7 (154  $\mu\text{g/g}$ ) (Fig. 4).

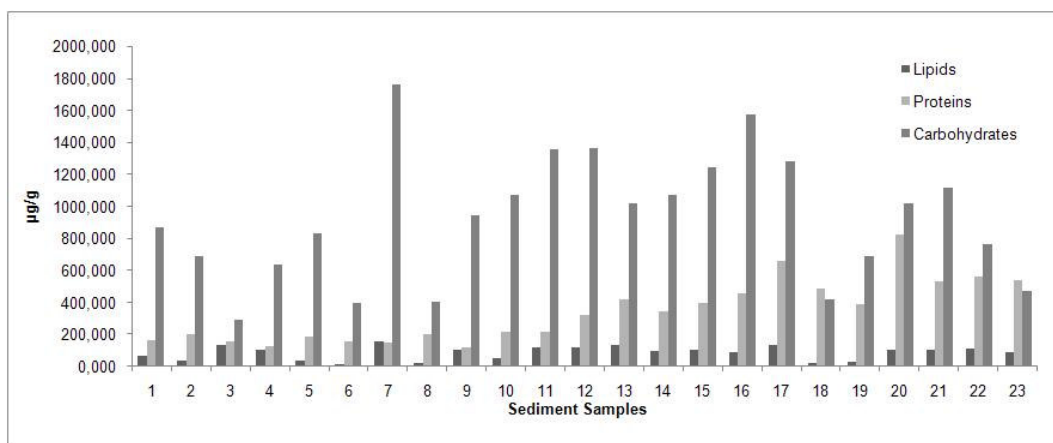


Figure 4 - Total biopolymer concentrations in the samples studied (lipids, proteins and carbohydrates).

Total biopolymeric carbon varied all over the mangrove. The largest concentration was determined at station 17 (936  $\mu\text{g/g}$ ) and the lowest at station 6 (247  $\mu\text{g/g}$ ) (Fig. 5).

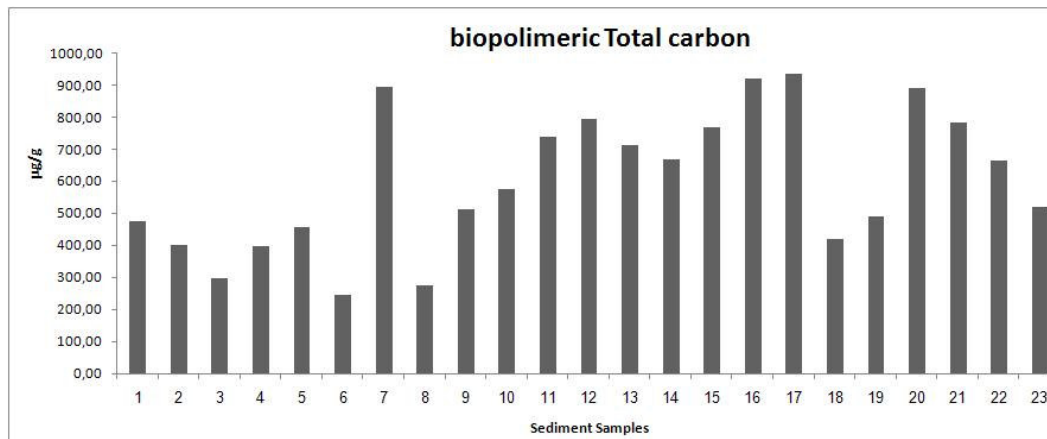


Figure 5 - Total biopolymeric carbon concentrations.

BC varied from 0.27  $\mu\text{g C/cm}^3$  (station 1) to 10.24  $\mu\text{g C/cm}^3$  (station 21). This station clearly presented a much higher value than the others, which did not surpass 3.72  $\mu\text{g C/cm}^3$ . The mean for BC values, excepting station 21, was 2.01  $\mu\text{g C/cm}^3$ . Stations placed at the mangrove front (1 to 8) presented values below the mean (Fig. 6).

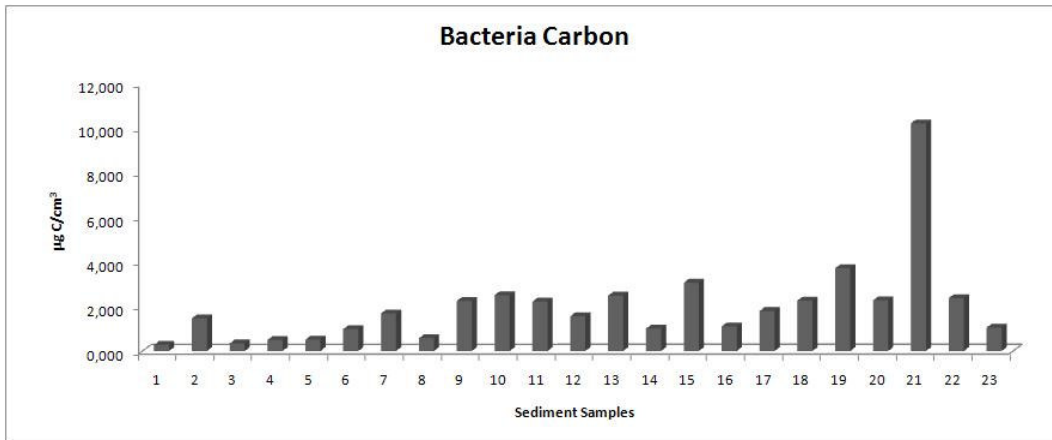


Figure 6 - Bacterial carbon concentrations.

Enzymatic activity values varied over the whole mangrove and the high esterase enzyme values indicated hydrolysis of molecules over 600 Da. The mean was 3.92 µg fluorescein/h/g. The highest value was found at station 21 (6.52 µg fluorescein/h/g) and the smallest at station 19 (1.35 µg fluorescein/h/g).

ETSA, related to biomass production, also displayed activity over the whole mangrove. ETSA values ranged from 0.004 µl O<sub>2</sub>/h/g (station 10) to 0.62 µl O<sub>2</sub>/h/g (station 16), with a mean of 0.13 µl O<sub>2</sub>/h/g. Stations 3 to 12, located close to the mangrove front, presented activity close to the mean (Fig. 7).

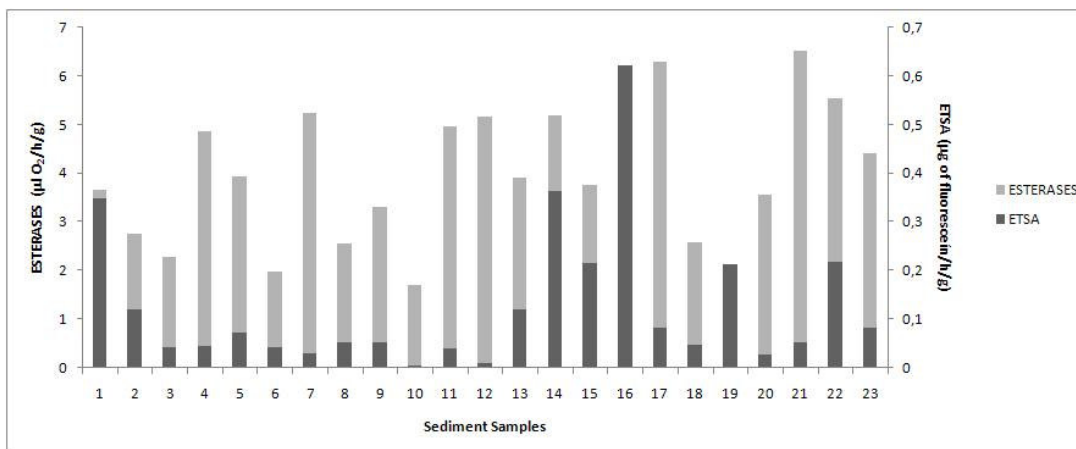


Figure 7 – ETSA and ESTE enzymatic activity concentrations.

The highest OM percentage was found at station 21 (23%) and the lowest at station 8 (1%). A high OM percentage, with a mean of 10% (Fig. 8), was found for the entire mangrove.

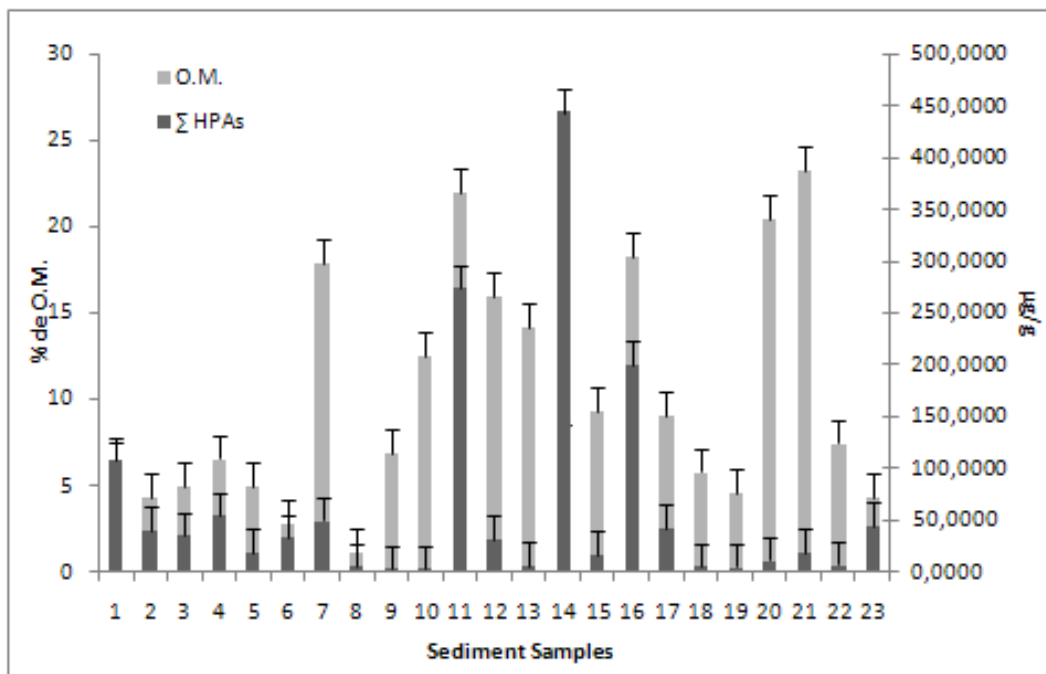


Figure 8 – Organic matter and total aromatic compounds (TAC) concentrations in samples.

The results of selected aromatic compounds determination are shown in Table 2. Compounds that showed the largest concentrations were phenanthrene, at 436  $\mu\text{g/g}$  (station 14), followed by xylene at 27.80  $\mu\text{g/g}$  (station 1) and phenol, at 25.40  $\mu\text{g/g}$  (station 2). Except in the case of stations 1, 2, 7, 15, 17 and 23, benzene concentrations were below level limit. Concentrations of the other monoaromatics were larger than benzene at all stations. Toluene concentrations ranged from 0.33 to 17.5  $\mu\text{g/g}$ , and xylene concentrations, between ND and 27.8  $\mu\text{g/g}$ .

Naphthalene was detected only at station 8 and at all other sites it was below the level limit. Phenanthrene concentrations varied widely at the stations studied (<LQ to 436  $\mu\text{g/g}$ ). Benzo[a]pyrene varied less (<LQ to 2.5  $\mu\text{g/g}$ ). Phenanthrene predominated

among PAHs and was found in most samples. This substance is of concern to aquatic biota since phenanthrene, pyrene and fluoranthene were previously found to be responsible for most of runoff toxicity to aquatic biota (Boxall and Maltby 1997).

The sum of concentrations of the aromatic substances studied ranged from 3.26 to 436 µg/g and only 3 stations presented values above 100 µg/g. Station 14 had a higher concentration of total ACs (444 µg/g), followed by stations 11 (275 µg/g) and 16 (201 µg/g) (Table 3).

Table 3 – Aromatic compound concentrations (µg/g) in sediments from Suruí Mangrove.

Samples	Phen	Ben	Tol	Xyl	Total BTX	Naph	Phen	B[a]P	Total PAHs	Total ACs
1	22.9	1.7	17.5	28.0	47.2	<LQ	22.0	<LQ	22.0	92.1
2	25.4	<LQ	<LQ	15.1	15.1	<LQ	<LQ	0.2	0.2	40.7
3	5.59	<LQ	2.4	7.7	10.2	<LQ	19.7	<LQ	19.7	35.4
4	9.56	2.1	4.6	1.7	8.3	0.1	36.7	<LQ	36.8	54.8
5	11.4	<LQ	0.8	7.2	7.9	<LQ	<LQ	0.1	0.1	19.5
6	18.8	<LQ	0.6	13.8	14.4	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	33.2
7	12.0	2.6	2.7	8.6	13.8	<LQ	23.4	0.5	23.9	49.8
8	2.84	<LQ	1.4	1.8	3.2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	6.0
9	2.35	<LQ	0.4	0.5	0.9	<LQ	<LQ	0.1	0.1	3.4
10	2.54	<LQ	0.3	0.4	0.7	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3.2
11	8.16	<LQ	1.2	<LQ	1.2	<LQ	265.0	0.5	265.5	275
12	4.03	<LQ	0.5	<LQ	0.5	<LQ	27.7	0.1	27.8	32.3
13	<LQ	<LQ	<LQ	1.2	1.2	<LQ	5.1	<LQ	5.1	6.30
14	1.80	<LQ	2.9	3.7	6.6	<LQ	436.0	0.1	436.1	445
15	3.28	0.7	5.0	7.9	13.6	<LQ	<LQ	0.1	0.1	17.0
16	1.67	<LQ	2.5	3.9	6.4	<LQ	192.0	0.1	192.1	200
17	1.97	0.4	3.4	4.1	8.0	<LQ	32.6	0.2	32.8	42.7
18	1.41	<LQ	1.4	3.1	4.6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	5.91
19	1.01	<LQ	1.3	0.3	1.6	<LQ	<LQ	2.5	2.5	5.11
20	2.18	<LQ	3.8	5.1	8.9	<LQ	<LQ	0.1	0.1	11.2
21	3.51	<LQ	5.4	10.1	15.5	<LQ	<LQ	0.2	0.2	19.2
22	1.22	<LQ	2.5	3.5	5.9	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	7.22
23	2.46	0.9	8.6	4.6	14.1	<LQ	28.0	<LQ	28.0	44.6

Phen (Phenol), Ben (Benzene), Tol (Toluene), Xyl (Xylene), Naph (Naphtalene), Phen (Phenantrene) and B[a]P (Benzo[a]pyrene)

LQ. = quantification limit.

## STATISTICAL ANALYSIS

In order to evaluate the relationships among different sampling stations, cluster analysis (CA) was used. Ward's method and Manhattan distances were considered for stations clustering. Concentrations <LQ were replaced by values between LQ and LD in order to avoid invalid values. CA results are shown in Figure 9.

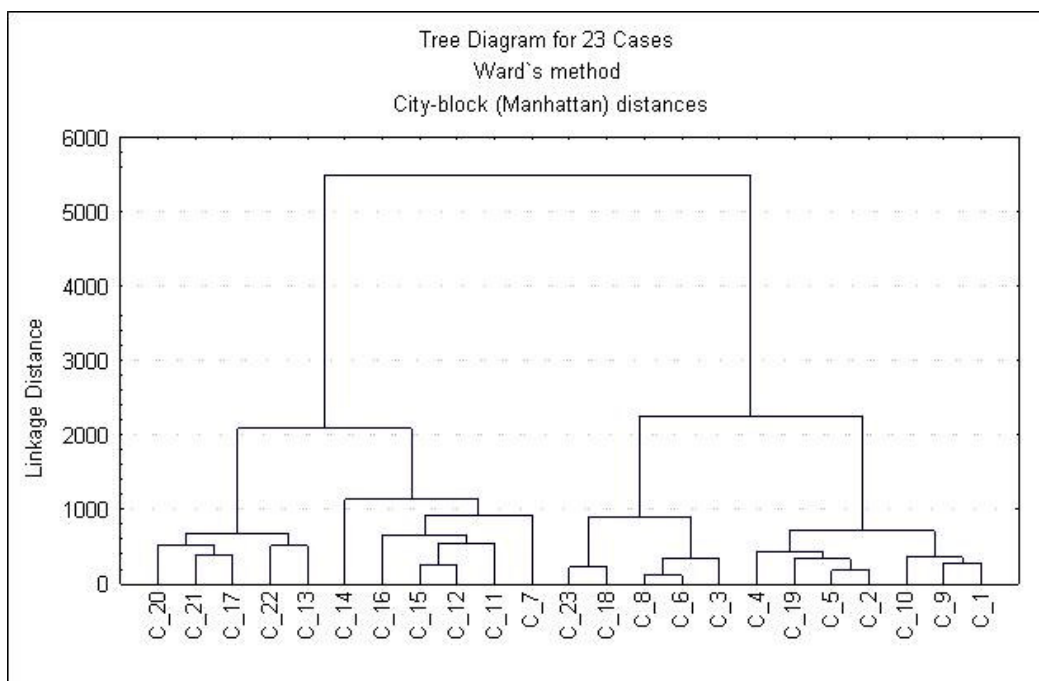


Figure 9 - Clustering of sampling points considering the 9 variables from Table 1.

Manhattan analysis, using nine variables – namely phenol, BTX (sum of benzene, toluene and xylene concentrations), PAH (sum of naphthalene, phenanthrene and benzo[a]pyrene concentrations), percentages of fines sediments and of organic matter (OM), total of carbohydrates (CHO), lipids (LIP) and proteins (PTN) and porosity – and 23 cases yielded 4 groups. Two main samples groups can be observed with a Dlink/Dmax value of around 40. The first group is formed mainly by samples from the center to the back of the mangrove (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21 and 22), presenting only one sample from the mangrove front (7). The second group was comprised mostly

of samples from the frontal part of the mangrove (1, 2 ,3, 4, 5, 6, 8, 9,10) and included three samples (19, 18 and 23) from the back.

The two main groups may be subdivided into two groups each. The first, formed by stations 13, 1, 15, 17, 20, 21 and 22, showed similarities especially in the variation of CHO concentration (767.78 to 1282.3 µg/g). The second, formed by stations 7, 11, 12 and 16, is grouped by variation of PTN concentration, 153.52 to 455.25 µg/g. A third group, formed by stations 3, 6, 8, 18 and 23, showed similarities in the contents of LIP (12.44 to 138.5 µg/g), PAHs and predominance of sand in the sediments (80%). The fourth group, comprising stations 1, 2, 4, 5 9, 10 and 19, was grouped by the contents of OM, BTX, phenol and porosity. In the variables diagram, grouping depended on sediment particle size and porosity, suggesting that the mineral matrix served as a first aggregation support for LIP and TPAHs. The accumulation of phenol in the sediment, derived from plant primary production, became a substrate for final aggregation of LIP, CHO and TPAHs, since PTNs, representing live biomass, are also in this group.

Principal Component Analysis was not able to reduce the number of variables necessary to describe the data set, and therefore data resulting from PCA was not considered for sampling station comparison.

The correlation matrix between variables is shown in Table 4. Significantly correlated variables ( $P < 0.05$ ) are shown in bold.

Table 4 – Correlation matrix.

	Phenol	BTX	PAH	Fines (%)	OM (%)	CHO	PTN	LIP	Porosity
Phenol	1	<b>0.663</b>	-0.128	-0.043	-0.239	-0.138	<b>-0.537</b>	-0.307	0.050
BTX		1	-0.131	0.104	-0.136	-0.079	-0.120	-0.077	0.227
PAH			1	0.090	0.218	0.330	-0.027	0.186	0.184
MUD				1	<b>0.741</b>	<b>0.781</b>	0.336	<b>0.565</b>	0.281
OM					1	0.761	0.345	<b>0.555</b>	-0.230
CHO						1	0.147	<b>0.569</b>	0.139
Ptn							1	0.196	0.015
Lip								1	0.202
Porosity									1

## DISCUSSION

The topographical analysis of Suruí Mangrove revealed an area of low elevation at the center and the back of the mangrove. Only at the mangrove's front is there an elevation which, together with plant roots, works as a protection against sea impact over mangrove sediments. The topographic variations discussed above are important in patterns of mangrove development and maintenance. Substrate elevation and topographical variations have been recognized as important criteria in the success and patterns of mangrove seedling establishment (Anthony 2004; Ellison 1998; Kitaya *et al.* 2002; Saenger 2003; Cohen *et al.* 2005; Lara and Cohen 2006). Both topography and plant distribution serve as a pattern for the accumulation of organic (such as hydrocarbons) and inorganic (such as metals) substances.

As in other studies, organic matter remained high over the entire mangrove. Organic matter content was comparable to other estuaries: Itacorubi/SC, 3.38 – 5.4% (Da Silva *et al.* 2005) and 0.005 – 6.13%, Guanabara Bay (Vilela *et al.* 2003; Carreira *et al.* 2001; Baptista Neto *et al.* 2000).

The high organic matter percentages, with a patch distribution pattern and associated to particle size, are typical of the studied environment (Wasserman *et al.* 2001; Kehrig *et al.* 2003; Wasserman *et al.* 2006). At station 8, where the lowest organic matter percentage was found, about 100% of the particle size was sand.

At Suruí Mangrove, phenol was not detected at only one sampling station. Kueh and Lam (2008) detected phenol in Tolo Harbour, inner Deep Bay, Hong Kong. The results indicate that land-based discharges are unlikely to be the main source of trace organics in marine water. Sewage contains large quantities of phenolic compounds that are commonly found in household, commercial and industrial products.

Moreover, oil refinery effluents contain many different chemicals at different concentrations, including phenol. The exact composition cannot however be generalized as it depends on the refinery and on which units are in operation at any given time. It is therefore difficult to predict the effects of an effluent may have on the environment (Kueh and Lam 2008). Buikema *et al.* (1981) looked at the effects of ammonia, phenol, chromates and fuel oil on the reproduction and growth of *Mysidopsis bahia*. When exposed to phenol, chromate and fuel oil these animals exhibited reproductive impairment. Phenol also caused growth inhibition.

The toxic effect is caused by high concentrations of organic compounds and/or high concentrations of inorganic compounds such as phenol in refinery wastes. The same effects are also observed with other chemical wastes, detergents and sewage pollution. It is therefore very difficult in areas with other sources of pollution to pinpoint the exact source of the observed effects (Wake 2005).

The proximity of Suruí Mangrove to the Suruí and Suruí-Mirim rivers, industrial complexes and refineries probably contributes as a source of sewage pollution and industrial effluents, hampering the identification of pollution sources.

The differences on hydrocarbon distribution at Suruí Mangrove showed patch distribution, and the presence of sand in the mangrove did not facilitate natural dampening of ACs. On the contrary, the high concentrations of organic matter and biopolymers propitiated sequestration of pollutants, since internal micropores between organic matter and its constituents maintained a high sorption. Thus, both the smallest and the highest AC values were determined in sandy fractions, suggesting linkage preference to organic matter and its constituents.

AC distribution indicates several contamination sources, with a first notification in 2000 (Mitchell 2000). Highest AC concentrations were determined between the center and



the back of the mangrove, and these are possible deposition sites, determined by the reach of the tides.

Our results agree with those by Kim *et al.* (1999), who proposed that sediment properties, such as organic matter and particle size, may influence the distribution and concentration of PAHs and other hydrophobic organic compounds. Another PAH study established the important role that mangrove sediments play as oil sinks (Díaz *et al.* 2000). The entrance of water breaks the *chernies*, scattering sand all over the surface of Suruí Mangrove, hampering the relation between particle size and AC sequestration in this mangrove.

A direct comparison of our data with previously published PAH data is difficult due to several factors including: a) differences in analytical and sampling methods; b) set of PAHs studied; c) different physical, biological and geological characteristics of the studied area. Indeed, our results indicate that total PAH concentrations are larger in several points than indicated by previous studies at the same area.

Maciel-Souza *et al.* (2006) determined TPAH concentrations of 11.53 to 28.28  $\mu\text{g/g}$  in a transect along a mangrove close to the refinery, at the back of Guanabara Bay, and of 1.23  $\mu\text{g/g}$  at a station on the Estrela River, close to Suruí Mangrove. In samples of surficial sediments from the same mangrove, TPAHs over 20  $\mu\text{g/g}$  were determined 10 days after the 2000 Guanabara Bay oil spill (Gabardo *et al.* 2000). In 4 samples, our results were higher than those of Gabardo *et al.* (2000), even 6 years after the spill. However, such high values suggest that this area may experience from contamination other sources.

Comparing these results in a more global context, PAH levels in Guanabara Bay were 2 to 6 times higher than the concentrations in 4 Hong Kong mangroves and 14 other sites distributed among China, the Caribbean and Puerto Rico, where the highest PAH levels

reported were 2.2  $\mu\text{g/g}$  (Tam *et al.* 2001). Medeiros *et al.* (2005) studied the distribution of total PAHs in an estuarine lagoon in southern Brazil, highlighting that in the sediment near the petroleum distribution site values reached 11.8  $\mu\text{g/g}$  and, in the refinery sediments, 4.4  $\mu\text{g/g}$ . These sites were 100 and 40 times more contaminated than a nearby lagoon and were described as chronic pollution sites. Zakaria *et al.* (2002) found different PAH concentration levels, ranging from 0.001 to 760  $\mu\text{g/g}$ , with modal concentrations of 1–10  $\mu\text{g/g}$  in rivers, lakes, estuaries, harbors and coastal areas. Of these regions, 80% presented values less than 1  $\mu\text{g/g}$  and only in highly industrialized sites were they greater than 10  $\mu\text{g/g}$ .

Due to the anoxic sedimentary environment, hydrolysis of organic matter biopolymers is carried out by anaerobic bacteria, with high esterase enzymes activity and lower electron transport system activity. Anaerobic processes like fermentation, denitrification and sulfate reduction are energetically less efficient, but are responsible for the biogeochemical cycles in Guanabara Bay sediments (Silva *et al.* 2008). This hypothesis is supported by the low electron transport system activity, responsible for the energy synthesis process and, concomitantly, of biomass. Other studies have corroborated this results (Relexans *et al.* 1996; Fenchel *et al.* 1988; Edwards *et al.* 2005).

Bacterial carbon, present in the whole mangrove, reached a mean of  $8^{10}$  cells/g, with no great variation in the stations sampled. Bacteria are present in the sample in great numbers ( $10^{10}$  cells/g), their biomass being higher than other benthic organisms, due to the function and structure of microbial biofilms (Meyer-Reil and Koster 2000).

Crapez *et al.* (2001) determined 0.54  $\mu\text{g}$  of fluorescein/h/g of esterase activity and 0.31  $\mu\text{l O}_2$ /h/g of electron transport system activity in sandy sediments from Praia de Boa Viagem, Niterói. Crapez *et al.* (2003) found different patterns in enzymatic

determinations performed in different seasons of the year. Silva *et al.* (2008), sampling 30 points of surficial sediment along Guanabara Bay, found a mean esterase activity value of 3.20  $\mu\text{g}$  of fluorescein/h/g and electron transport system activity in only 15 stations.

Mangrove trees contribute considerable quantities of autochthonous organic matter to the sediment, but also receive waters contaminated by sewage, due to the river system that flows through industrial and residential areas close to Suruí Mangrove. The high organic matter indices allow the sequestration of aromatic hydrocarbons, making them unavailable for biodegradation (Kubicki and Apitz 1999), which explains the presence of volatile compounds, such as benzene, toluene and xylene, in Suruí Mangrove sediments (Fontana *et al.* 2006). According to Pignatello (2003), most forms of natural organic matter contain internal micropores, irreversibly deformed, which act to maintain a more or less linear sorption, competing with a slow desorption.

The carbohydrate, protein, lipid and total biopolymeric carbon values determined in this study are inferior to data from the literature. Pusceddu *et al.* (1999), in the west Mediterranean (Italy), found 760 – 70530  $\mu\text{g/g}$  of carbohydrates, 21600 - 1210  $\mu\text{g/g}$  of proteins and 260 - 4470  $\mu\text{g/g}$  of lipids. Dell'Anno *et al.* (2002), also in Italy, found 4600  $\mu\text{g/g}$  of carbohydrates, 2100  $\mu\text{g/g}$  of proteins and 1000  $\mu\text{g/g}$  of lipids. The lower hydrodynamics areas showed the highest lipid concentrations, which are associated to fine sediments (Kjerfve *et al.* 1997, Amador 1980).

The protein/carbohydrate ratio may be used as an eutrophication level indicator in coastal systems. The ratio for an eutrophic environment is <1500 - 4000  $\mu\text{g/g}$  for proteins and 5000 - 7000  $\mu\text{g/g}$  for carbohydrates (Dell'Anno *et al.* 2002; Pusceddu *et al.* 1999).

Although several authors have indicated the existence of an eutrophication process in Guanabara Bay, in the case of Suruí Mangrove that biopolymeric ratio cannot be applied, due to high variation of the carbohydrate values determined and, probably, the greater velocity of physicochemical reactions in tropical environments.

## CONCLUSIONS

The topography of Suruí Mangrove allows the entrance of bay water, which breaks the *chernies* and spreads the sandy fraction all over the sediment, the central and back areas acting as deposition sites. Grain size is supposedly an important factor in natural attenuation of hydrocarbons. However, the high organic matter contents, even in samples with homogeneous distribution of sand/silt/clay, facilitated the maintenance of ACs in the sediments, together with biopolymers such as carbohydrates and proteins.

Mangroves are highly vulnerable to oil impact and play important roles in the maintenance of shorelines and as nurseries for several species. ACs in Suruí Mangrove are not washed by the tide nor naturally attenuated because, aside from the organic matter, the almost flat topography and disposition of the vegetation allow the sequestration of these substances.

Compared to global patterns of petroleum hydrocarbon distribution, concentrations in the surficial sediments of Suruí Mangrove may be classified as from moderate to high, constituting of an area highly impacted by continual incidents and by industrial and transportation discharges in Guanabara Bay.

## ACKNOWLEDGMENTS

To ANP for financing LFF's PhD thesis at the Geology and Geophysics Program at Universidade Federal Fluminense and to Companhia Siderúrgica Nacional, and Eng.

Muricy Ribeiro Brito and Biotechnology technician Eliane Guedes de Carvalho (CSN - Companhia Siderúrgica Nacional, Gerência de Laboratórios de Desenvolvimento) for technical assistance with the HPLC analyses.

## REFERENCES

- Achmadi S, Syahbirin G, Choong E T and Hemingway R W. 1994. Catechin-3-O-rhamnoside chain extender units in polymeric procyanidins from mangrove bark. *Phytochemistry (Elsevier)* 35: 217-219.
- Alloway B J. 1990. The origins of heavy metals in soils. In: ALLOWAY, B. J. (Ed) *Heavy metals in soils*. New York: John Wiley 29-39 p.
- Amador E S. 1980. Assoreamento da Baía de Guanabara – taxas de sedimentação. *An Acad Bras Cienc.* 52: 723-742.
- Anthony E J. 2004. Sediment dynamics and morphological stability of an estuarine mangrove complex: Sherbro Bay, West Africa. *Mar Geol* 208: 207–224.
- Baptista Neto J A, Smith B J and Mcallister J J. 2000. Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, S.E. Brazil. *Environ Pollut (Elsevier)* 109: 1-9.
- Boxall A B A and Maltby L. 1997. The effects of motorway runoff on freshwater ecosystems: 3. Toxicant confirmation. *Arch Environ Contam Toxicol* 33: 9-16.
- Buikema A L, Niederlehner B R and Cairns Jr. 1981. The effects of a simulated refinery effluent and its components on the estuarine Crustacean, *Mysidopsis bahia*. *Arch Environ Contam Toxicol* 10: 231–240.
- Byers S, Mills E and Stewart P. 1978. Comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiol* 58: 43-47.

- Carlucci A F, Craven D B, Robertson D J, Williams P M. 1986. Surface-film microbial populations diel amino acid metabolism, carbon utilization and growth rates. *Mar Biol* 92: 289-297.
- Carreira R, Wagener A L R, Fileman T and Readman J. 2001. Distribuição de coprostanol (5 $\beta$ (H)-COLESTAN-3 $\beta$ -OL) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: indicador da poluição recente por esgotos domésticos. *Quím Nova* 24: 37-42.
- Cohen M, Filho P, Lara R, Behling H and Angulo R. 2005. A model of Holocene mangrove development and relative sea-level changes on the Bragança Peninsula (Northern Brazil). *Wetl Ecol and Manag* 13: 433–443.
- Crapez M A C, Cavalcante A C, Bispo M G S, Alves P H. 2001. Distribuição e atividade enzimática de bactérias nos limites inferior e superior entre-marés na Praia de Boa Viagem, Niterói, R.J., Brasil. Efeito de poluentes em organismos marinhos, Moraes, R. *et al.* (Eds) São Paulo, Arte e Ciência, Villipress, p. 129-138.
- Crapez M A C, Baptista Neto J A and Bispo M G S. 2003. Bacterial Enzymatic Activity and Bioavailability of Heavy Metals in Sediments From Boa Viagem Beach (Guanabara Bay). *An Inst Geoc (UFRJ)* 26 :60-68.
- Day M J, Reinke R F and Thomson J A M. 2001. Fate and transport of fuel components below slightly leaking underground storage tanks. *Environ Forensics* 2: 21–28.
- Da Silva F S, Laut V M, Laut L L M, Figueiredo Jr A G, Bonetti C, Viana L G and Crapez M A C. 2005. Avaliação da qualidade ambiental em sedimentos superficiais do estuário de Itacorubi - Baía Norte (SC), utilizando a relação granulometria e atividade respiratória bacteriana. *Proceedings X Congresso da ABEQUA, 2005, Guarapari-ES, CD-ROM.*

- Dell'Anno A, Mei M L, Pusceddu A and Danovaro R. 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal biochemical composition of sediment organic matter. *Mar Pollut Bull* 44: 611-622.
- Díaz M P, Grigson S J W, Pepita C J and Burgess J G. 2000. Isolation and characterization of novel hydrocarbon-degrading euryhaline consortia from crude oil and mangrove sediments. *Mar Biotechnol* 2: 522-532.
- Dubois M, Gilles K, Hamilton J K, Rebers P A and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt Chem* 28: 350–356.
- Edwards K J, Bach W and McCollom T M. 2005. Geomicrobiology in oceanography: microbe-mineral interactions at and below the seafloor. *Trends Microbiol* 13: 449-456.
- Egler C A G, Cruz C B M, Madsen P F H, Costa S de M and Silva E A. 2003. Proposta de zoneamento ambiental da Baía de Guanabara. *An Inst Geoc (UFRJ)* 26: 127-138.
- Ellison J C. 1998. Impacts of sediment burial on mangroves. *Mar Pollut Bull* 37: 420–426.
- Fabiano M and Pusceddu A. 1998. Total and hydrolyzable particulate organic matter (carbohydrates, proteins and lipids) at a coastal station in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Polar Biol* 19: 125–132.
- Fabiano M, Danovaro R and Frascchetti S. 1995. A three-year time series of elemental and biochemical composition of organic matter in subtidal sediments of the Ligurian Sea (northwestern Mediterranean). *Cont Shelf Res* 15: 1453–1469.
- Fenchel T, King G M, Blackburn T H. 1988. *Bacterial biochemistry: the ecophysiology of mineral cycling*. 2nd ed. Academic Press 307 p.
- Flemming B K. 2000. A revised textural classification of gravel-free muddy sediments on the basis of ternary diagrams. *Cont Shelf Res* 20: 1125-1137.

- Folk R L. 1968. Petrology of sedimentary rockys. Hemphill's, Austin. 170 p.
- Fontana L F, Da Silva F S, Krepsky N, Barcelos M A and Crapez M A C. 2006. Natural attenuation of aromatic hydrocarbon from sandier sediment in Boa Viagem beach, Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Geochem Bras* 20: 78-86.
- Furukawa K, Wolanski E and Mueller H. 1997. Currents and sediment transport in mangrove forests. *Estuar Coast Shelf S* 44: 301-310.
- Gabardo I T, Meniconi M F G, Falcão LV, Vital N A A, Pereira R C L, Carreira R S. 2001. Hydrocarbon and ecotoxicity in seawater and sediment samples of Guanabara Bay after the oil spill in january 2000. *Proceedings 2001 International Oil Spill Conference*, American Petroleum Institute Publ 941-950 pp.
- Gerchacov S M and P G Hatcher. 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediment. *Limnol Oceanogr* 17: 938-943.
- GESAMP 1993. Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment. *Rep. Stud. GESAMP* 50-180 pp.
- Houri-Davignon C and Relexans J-C. 1989. Measurement of actual electron transport system (ETS) Activity in marine sediments by incubation with INT. *Environ Technol Lett* 10: 91-100
- IARC – International Agency for Research on Cancer 2007. Complete list of agents, mixtures and exposures evaluated and their classification.
- IPCS – International Programme on Chemical Safety 1996. Diesel fuel and exhaust emissions. World Health Organization, Geneva.
- IPCS – International Programme on Chemical Safety 1997. Xylenes, World Health Organization, Geneva.
- IPCS – International Programme on Chemical Safety 1998 Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons, World Health Organization, Geneva.



- Kannan K, Johnson-Restrepo B, Yohn S S, Giesy J P and Long D T. 2005. Spatial and temporal distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Michigan Inland Lakes. *Environ Sci Technol* 39: 4700-4706.
- Kathiresan K. and Ravi A Y. 1990. Seasonal changes in tannin content of mangrove leaves. *Indian Forester* 116: 390-392.
- Kennish M J. 1997. *Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution*. Boca Raton, Florida. CRC Press Inc 524 p.
- Hartree E F. 1972. Determination of proteins: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem* 48: 422-427.
- Kehrig H A, Pinto F N, Moreira I and Malm O. 2003. Heavy metals and methylmercury in a tropical coastal estuary and a mangrove in Brazil. *Org Geochem* 34: 661-669.
- Kepner Jr, Pratt J R. 1994. Use of fluorochromes for direct enumerations of total bacteria in environmental samples: past and present. *Microbiol Rev* 58: 603-615
- Kim G B, Maruya K A, Lee R F, Lee J H, Koh C H and Tanabe S. 1999. Distribution and sources of PAHs in Kyeonggi Bay, Korea. *Mar Pollut Bull* 38: 7-15.
- Kitaya Y, Jintana V, Piriyaoytha S, Jaijing D, Yabuki K, Izutani S, Nishimiya A and Iwasaki M. 2002. Early growth of seven mangrove species planted at different elevations in a Thai estuary. *Trees-Struct Funct* 16: 150-154.
- Kjerfve B, Ribeiro C, Dias G, Filippo A and Quaresma V. 1997. Oceanographic characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil. *Cont Shelf Res* 17: 1609-1643.
- Kubicki J D and Apitz S E. 1999. Models of natural organic matter and interactions with organic contaminants. *Org Geochem* 30: 911-927.
- Kueh C S W and Lam J Y C. 2008. Monitoring of toxic substances in the Hong Kong marine environment. *Mar Pollut Bull* 57: 744-757

- Lara R N and Cohen M. 2006. Sediment porewater salinity, inundation frequency and mangrove vegetation height in Bragança, North Brazil: an ecohydrology-based empirical model. *Wet. Ecol. Manag* 14: 349–358.
- Maciel-Souza M C, Macrae A, Volpon A G T, Ferreira P S, Mendonça-Hagler L C. 2006. Chemical and microbiological characterization of mangrove sediments after a large oil-spill in Guanabara Bay - RJ – Brazil. *Braz J Microbiol* 37: 262-266.
- Mai B X, Qi S H, Zeng E Y, Yang Q S, Zhang G, Fu J M, Sheng G Y, Peng P A and Wang Z S. 2003. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the coastal region off Macao, China: assessment of input sources and transport pathways using compositional analysis. *Environ Sci Technol* 37: 4855-4863.
- Marsh J B and Wenstein D B. 1966. A simple charring method for determination of lipids. *J Lipid Res* 7: 574–576.
- Medeiros P M, Bicego M C, Castelao R M, Del Rosso C, Fillmann G, Zamboni A J. 2005. Natural and anthropogenic hydrocarbons inputs to sediments to Patos Lagoon Estuary. *Braz Environ Int* 31: 77-87.
- Menchini E, Bertolaccini M A, Taggi F, Falleni F, Monfredini F. 1999. A 3-year study of relationships among atmospheric concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons, carbon monoxide and nitrogen oxides at an urban site. *Sci Total Environ* 241: 27–37.
- Meyer-Reil L-A and Koster M. 2000. Eutrophication of marine waters: effects on benthic microbial communities. *Mar Pollut Bull* 41: 255-263.
- Migaszewski Z M, Galuszka A and Paslawski P. 2002. Polynuclear aromatic hydrocarbons, phenols, and trace elements in selected soil profiles and plant bioindicators in the Holy Cross Mountains, South-Central Poland. *Environ Inter* 28: 303–313.

- Mitchel J. 2000. Assessment and recommendations for the oil spill cleanup of Guanabara Bay, Brazil. *Spill Sci Technol B* 6: 89-96.
- Monod A, Sive B C, Avino P, Chen T, Blake D R, Rowland F S. 2001. Monoaromatic compounds in ambient air of various cities: a focus on correlations between xylenes and ethylbenzene. *Atmos Environ* 35: 135–149.
- Ohkouchi N, Kawamura K and Kawahata H. 1999. Distributions of three- to seven-ring polynuclear aromatic hydrocarbons on the Deep Sea Floor in the Central Pacific. *Environ Sci Technol* 33: 3086-3090.
- Pereira Netto A D, Moreira J C, Dias A E X O, Arbilla G, Ferreira L F V, Oliveira, A S and Barek J. 2000. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. *Quím Nova* 23: 765-773.
- Pereira Netto A D, Sisinnio C L S, Moreira J C, Arbilla G and Dufrayer M. 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons in leachate from a municipal solid waste dump of Niterói City, RJ, Brazil. *Bull Environ Contam Toxicol* 68: 148–154.
- Pereira Netto A D, Cunha I F, Muniz F C and Rego E C P. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons in street dust of Niterói City, RJ, Brazil. *Bull Environ Contam Toxicol* 72: 829–835.
- Pignatello J J. 2003. Sorption of small molecules to natural organic matter from humic acid to black carbon: a perspective on the nature pores. *Geophys Res Abs* 5: 12575.
- Pusceddu A, Sara G, Armeni M, Fabiano M and Mazzola A. 1999. Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea). *Hydrobiol* 397: 59-70.
- Ravi A V and Kathiresan K. 1990. Seasonal variation in gallotannin from mangroves. *Indian J Mar Sci* 19: 224-225.

- Rego E C P and Pereira Netto A D. 2007. PAHs and BTEX in Groundwater of Gasoline Stations from Rio de Janeiro City, Brazil. *Bull. Environ. Contam Toxicol* 79: 660–664.
- Relexans J-C. 1996. Measurement of the respiratory electron transport system (ETS) activity in marine sediments: state-of-the-art and interpretation. I. Methodology and review of literature data. *Mar Ecol-Prog Ser* 136: 277-287.
- Rice D L. 1982. The detritus nitrogen problem: new observation and perspectives from organic geochemistry. *Mar Ecol-Prog Ser* 9: 153–162.
- Saar R A and Weber J H. 1982. Fulvic acid: modifier of metal-ion chemistry. *Environ Sci Technol* 16: 866-872.
- Saenger P. 2003. *Mangrove Ecology, Silviculture and Conservation*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 372 pp.
- Silva F S, Pereira D da C, Nuñez L S, Krepsky N, Fontana L F, Baptista Neto J A and Crapez M A C. 2008. Bacteriological study of the superficial sediments of Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Braz J Ocean* 56: 13-22.
- Shepard F P. 1954. Nomenclature based on sand-silt-clay ratios. *J Sediment Petrol* 24: 151-158.
- Soares M LG, Silva Jr C M G, Cavalcanti V F, Almeida P M M, Monteiro A S, Chaves F O, Estrada G C D and Barbosa B. 2006. Regeneração de floresta de mangue atingida por óleo na Baía de Guanabara (Rio de Janeiro, Brasil): Resultados de 5 anos de monitoramento. *Geochem Bras* 20: 54-77.
- Stubberfield L C F and Shaw P J A. 1990. A comparison of tetrazolium reduction and FDA hidrólisis with other measures of microbial activity. *J Microbiol Met* 12: 151-162
- Suguio K. 1973. *Introdução a Sedimentologia*. Edgard Blucher, São Paulo, 317 p.

- Tam N F Y and Wong Y S. 1999. Mangrove soils in removing pollutants from municipal wastewater of different salinities. *J Environ Qual* 28: 556–64.
- Tam N F Y and Wong Y S. 2000. Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. *Environ Pollut* 110: 195–205.
- Tam N F Y and Yao M W Y. 2002. Concentrations of PCBs in coastal mangrove sediments of Hong Kong. *Mar Pollut Bull* 44: 642–51.
- Tam N F Y, Ke L, Wang X H and Wong Y S. 2001. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environ Pollut* 114: 255-263.
- Trevors J. 1984. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O<sub>2</sub> concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil. *Water Res* 77: 285-293
- Vilela C G, Sanjinés A E S, Ghiselli R O Jr, Filho J M, Baptista Neto J A and Barbosa C F. 2003. Search for Bioindicators of Pollution in the Guanabara Bay: Integrations of Ecologic Patterns. *An Inst Geoc (UFRJ)* 26: 25-35.
- Wake H. 2005. Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment. *Estuar Coast Shelf S* 62: 131–140.
- Wasserman J C, Figueiredo A M G, Pellegatti F and Silva E V. 2001. Elemental composition of sediment cores from a mangrove environment using neutron activation analysis. *J Geochem Explor* 72: 129-146.
- Wasserman J C, Botelho A L M, Crapez M A C, Bispo M G S, Da Silva F S and Filgueiras C M. 2006. Hydrocarbons and Bacterial Activity in mangrove sediments from Guanabara Bay, Brazil. *Geochem Bras* 20: 30-41.
- Zakaria M P, Takada H, Tsutsumi S, Ohno K, Yamada J, Kouno E and Kumata H. 2002. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rivers and

estuaries in Malaysia: a widespread input of petrogenic PAHs. *Environ Sci Technol* 36: 1907-1918.

Zheng G J, Lam M H W, Lam P K S, Richardson B J, Man B K W and Li A M Y. 2000. Concentrations of persistent organic pollutants in surface sediments of the mudflat and mangroves at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong. *Mar Pollut Bull* 40: 1210-4.

Zheng G J, Man B K M, Lam J C W, Lam M H W and Lam P K S. 2002. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediment of a sub-tropical coastal wetland. *Water Res* 36: 1457-68.

## 7.2. GEOMICROBIOLOGIA DE TESTEMUNHOS DO MANGUEZAL DE SURUÍ, BAÍA DE GUANABARA – BRAZIL

### GEOMICROBIOLOGY OF CORES FROM SURUÍ MANGROVE - GUANABARA BAY – BRAZIL.

Luiz Francisco Fontana<sup>1</sup>, Frederico Sobrinho da Silva<sup>2</sup>, Annibal Duarte Pereira Netto<sup>3</sup>, Elisamara Sabadini-Santos<sup>4</sup>, Alberto Garcia Figueiredo Junior<sup>1</sup> e Mirian Araújo Carlos Crapez<sup>4</sup>.

1- PPG em Geologia e Geofísica Marinha, Instituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense. E-mail: [lffontana@hotmail.com](mailto:lffontana@hotmail.com) / [alberto@igeo.uff.br](mailto:alberto@igeo.uff.br)

2- PPG em Química, Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense. E-mail: [annibal@vm.uff.br](mailto:annibal@vm.uff.br)

3- PPG em Geologia, Instituto de Geologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. E-mail: [fred@ufrj.br](mailto:fred@ufrj.br)

4- PPG em Biologia Marinha, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense. E-mail: [mirian@vm.uff.br](mailto:mirian@vm.uff.br)

#### RESUMO

O alvo deste trabalho foi determinar os biopolímeros associados às enzimas esterases e identificar a atividade respiratória bacteriana em quatro testemunhos coletados no Manguezal de Suruí, Baía de Guanabara-RJ. As concentrações dos biopolímeros foram 1000 vezes menores do que apresentadas na literatura, sendo necessário a criação e o estabelecimento dos níveis indicativos de eutrofização e de registros compatíveis aos nossos sistemas litorais. O relacionamento representativo bioquímico nos testemunhos foi equivalente aos trabalhos descritos no hemisfério norte para ambientes marinhos litorais. As enzimas esterases no sedimento foram mostradas eficientes na mineralização dos biopolímeros, mesmo com fisiologia metabólica preferencialmente sendo anaeróbica. Apesar da falta de estudos incipientes sobre geomicrobiologia, os resultados mostraram a possível aplicação da microbiologia para uma compreensão melhor dos processos geológicos.

**Palavras Chave: atividade respiratória bacteriana; composição bioquímica; enzimas esterase; geomicrobiologia e sedimento.**

*Submitted: Quaternary and Environmental Geosciences.*

#### ABSTRACT

The aim of this work was to quantify the biopolymers associated to esterase enzymes and identify bacterial respiratory activity in four cores collected in Suruí Mangrove, Guanabara Bay - RJ. Biopolymer concentration was 1000 times lower than reported in the literature, indicating the need for creating and establishing eutrophication indicative rates and records compatible with our coastal systems. The biochemical representative relationships in the cores were equivalent to those from studies on coastal marine environments made in the Northern Hemisphere. The esterase enzymes in the sediment proved efficient in the mineralization of biopolymers, even with preferentially anaerobic metabolic physiology. Despite the lack of incipient geomicrobiological studies, the results highlighted the possible application of microbiology to a better understanding of geological processes.

**KEYWORDS: sediment; biochemical composition; esterase enzymes; bacterial respiratory activity; geomicrobiology.**

## INTRODUCTION

The geochemist's view of sediments may be confined to the search for a particular mineral, and that of the microbiologist to an interest in a particular microbe, but between these extremes lies an area of interest to both disciplines that provides exciting opportunities for collaborative research.

Organic matter exists in particulate and dissolved forms within a given water column. Initially this organic matter consists of all the major classes of naturally occurring organic compounds such as sugars, amino acids, pigments, phenolic substances, lipids, polypeptides, polysaccharides, and other constituents of living organisms. During the sedimentation process, only a small portion of the initial organic matter reaches the bottom (Premuzic *et al.* 1982). The survival of organic compounds during sedimentation depends on a number of parameters including their chemical stability, biochemical usefulness, oxygen concentration and interaction with clay minerals.

After sedimentation, organic particles are equally subjected to a continuous degradation and mixing process, while deposition of other materials continues at the same time (Colombo *et al.* 1996). Thus, environmental and biological factors such as the depth of the water column, resuspension events, the concentration of dissolved oxygen, primary production or the metabolic activity of benthic organisms may be fundamental in accounting for the quantity and quality of the organic bulk of sediments (Emerson *et al.* 1985; Cowie & Hedges 1992; Danovaro *et al.* 1999; Fiordelmondo & Pusceddu 2004). The oxidation capacity of the organic particles themselves will also influence their distribution and transformation (Relexans *et al.* 1992). Organic matter and products from the processes are to a large extent controlled by the availability of electron acceptors. Organic compounds and clays processing through and subsequently settling in a low-oxygen environment will accumulate and form sediment-enriched unoxidized organic matter (Demaison & Moore 1980). Finally, although a part of the settled organic matter may return to

the water column, a fraction will remain as a sedimentary record (Tselepidis *et al.* 2000).

The bacteria involved in anaerobic mineralization in sediments are generally much less versatile than the aerobic (Sepers 1981) as to the amount of organic carbon and the energy sources that can be used. An exception may be some denitrifying bacteria that are active in sediment surfaces and whose anaerobic metabolism does not greatly differ from their metabolism under aerobic conditions. However, for apparently stringent reasons, such quantitatively important substrates as glucose cannot be oxidized to completion by microbes that can carry out anaerobic respiration in which sulfate or carbon dioxide act as electron acceptors.

In contrast to aerobic environments, mineralization in sediments is the result of a sequence of processes whereby products of one metabolic group of organisms form the substrate for others. The communities thus formed therefore consist of microbes that are highly dependent on each other's activities. For this reason, the participants in anaerobic mineralization processes are of particular interest to the study of microbial interactions.

A community similar to the one found in sediments occurs in the anaerobic environment created by man for the degradation of organic matter in sewage.

The aim of this work was to characterize sediment samples collected in Suruí Mangrove as to levels of organic matter, biopolymers and granulometry, and verify their relationship to biomass, metabolism and bacterial enzymatic activity.

## STUDY AREA

The Suruí River mangrove is located in Magé Municipality (7.489.800 S, 694.280 W), spanning approximately 80,000 – 100,000 m<sup>2</sup>. Because it is located to the north of the Guapimirim Environmental Protection Area (APA), it shares features with the zone termed *Norte-APA de Guapimirim* (Fig. 1).



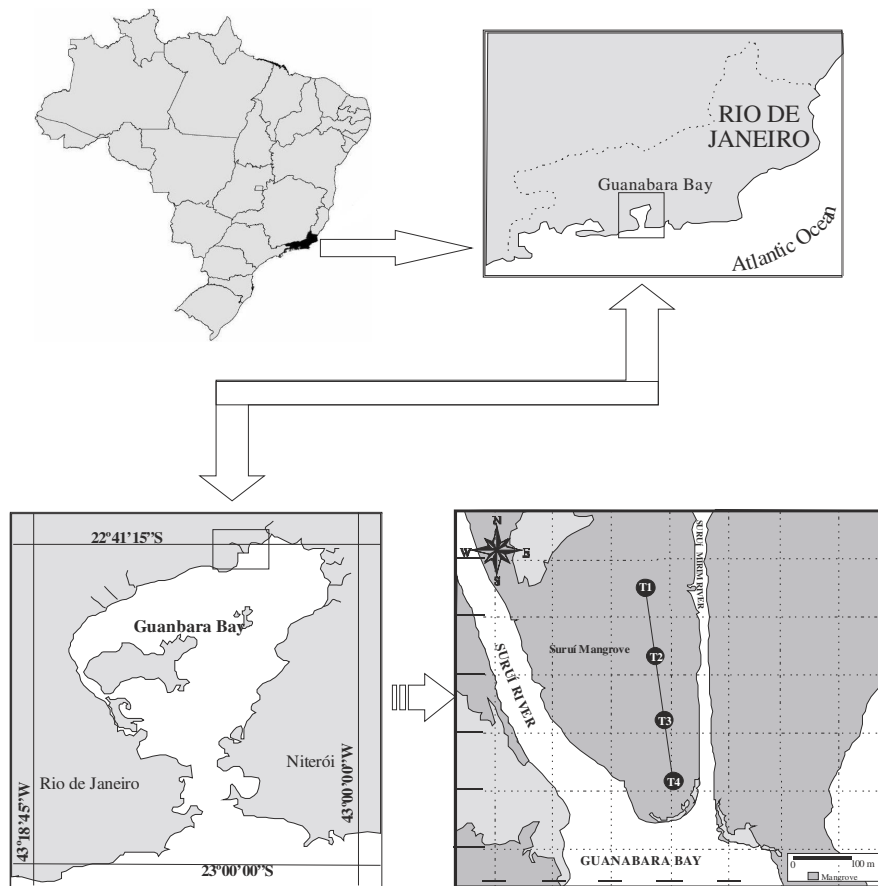


Figure 1 – Localization of Suruí Mangrove.

This mangrove is bound by Morro da Solina to the west and by the RJ-116 highway to the north. Its importance increases by the presence of the Suruí River and the Suruí-Mirim Channel, both acting in some parts as boundaries to Guapimirim APA, and by the fact that they flow into Guanabara Bay (Soares *et al.* 2006). Like most rivers in the region, they are constantly flooded and have predominantly flat topography, close to sea level, which generates the development of mangroves and the presence of *chernies* at the edges and fringe (Fontana, submitted).

Water flow through the mangrove is reduced by mangrove plants, characterizing complex current patterns, including jets, eddies and stagnant zones. The flow of suspended sediment shows that most of it returns and settles in the mangrove itself, and is not reexported (Furukawa *et al.* 1997). Suruí Mangrove's predominant plant species along most of the Suruí River's 3,600 m (from Suruí to the mouth) is the white mangrove (*Laguncularia racemosa*). There are also, interspersed, a few

clusters of black mangrove (*Avicennia schaueriana*), with their pneumatophores. Closer to the mouth some clusters of red mangrove (*Rhizophora mangle*) appear, with their buttress roots. The mangrove is under strong anthropic pressure, since due to the tidal regime it is possible to find, all around it, garbage that invades it by the fringe. The predatory practice of catching crabs with raffia sacks next to the burrows, and the indiscriminate tree logging, landfilling, draining and deforesting alter hydrological conditions and, consequently, mangrove functioning, thus hampering management and conservation and constituting a great impact over the Guapimirim APA mangroves (Soares *et al.* 2006).

Just like the two other zones to the north of the APA, environmental management of this zone also calls for close follow-up, since it represents a significant 10% of its urbanized area, with low settlement intensity. Forest cover is practically nonexistent (just 0.2%). These percentages point to strong indications of deforesting near the preservation area, a process

that ought to merit remediation. More auspiciously, 16.6% of the area is constituted by conserved mangrove, against 0.21% of degraded mangrove. The wetlands and flooded areas together represent 12.1%, which indicates the possibility of actions directed at mangrove regeneration too (Egler *et al.* 2003).

The 2000 oil spill was one of the most severe ever recorded in Guanabara Bay, hitting several ecosystems in the region. It was the second accident with the same pipeline, which had already leaked in 1997, due to the rupture of a Duque de Caxias Refinery (REDUC) oil pipeline. According to Petrobras estimates, a total of about 1,300 m<sup>3</sup> of crude leaked, of which 25% (325 m<sup>3</sup>) evaporated, 40% (520 m<sup>3</sup>) were recovered and the rest (455 m<sup>3</sup>) was retained in mangroves and rocky shores (Mitchell 2000). The Suruí Mangrove area may have been impacted by part of the oil spilled in that incident.

## MATERIAL AND METHODS

During 2008, four sediment cores at 30 cm were collected in Suruí Mangrove, Guanabara Bay, RJ, Brazil (Figure 2).

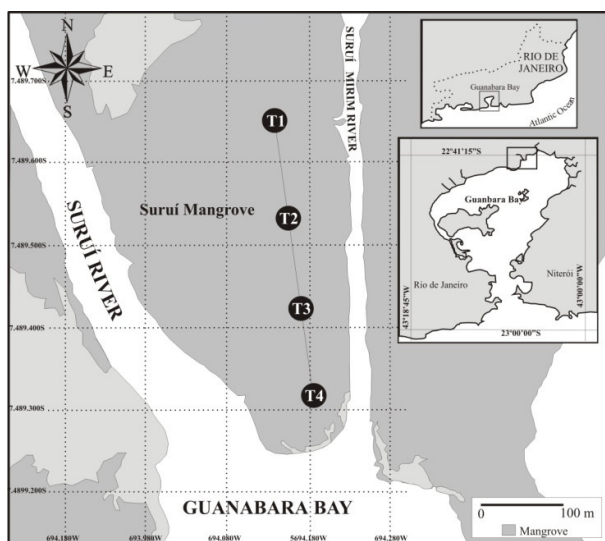


Figure 2 – Transect in Suruí Mangrove (sampling grid)

To facilitate the transportation and analyses of the cores, they were cut in 5-cm sections. Each section was divided into the following intervals: 0-3, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 and 25-30 cm. These samples were stored in sealed polythene

bags, conditioned in ice and taken to the laboratory, where the following analyses were carried out.

The grain sizes of the sediment samples collected in Suruí Mangrove were determined with a Malvern laser sediment meter, model Mastersizer 2000, with an analysis capacity of particle sizes ranging from 0.02 to 2000 μm, and classified according to the textural classification proposed by Flemming (2000).

The calcination method was used to calculate the total organic matter and the sediment samples were conditioned in a porcelain crucible which had its weight determined previously. After being filled with the samples the crucible was weighed and placed in a muffle at 450°C for 24 hours. The crucible was then weighed again so that the material organic concentration in the samples could be obtained by the difference between masses (Byers *et al.* 1978, Baptista-Neto *et al.* 2000, Crapez *et al.* 2003).

The protein (PTN) analyses were carried out after extractions with NaOH (0.5 M, 4 h) and were determined according to Hartree (1972) modified by Rice (1982) to compensate for phenol interference. Concentrations are reported as albumin equivalents. Carbohydrates (CHO) were analyzed according to Gerchacov & Hachter (1972) and expressed as glucose equivalents. The method is based on the same principle as the widely used method of Dubois *et al.* (1956), but is specifically adapted for carbohydrate determination in sediments. Lipids (LIP) were extracted by direct elution with chloroform and methanol and analyzed according to Marsh and Wenstein (1966). Lipid concentrations are reported as tripalmitine equivalents. For each biochemical analysis, blanks were made with the same sediment samples as previously treated in a muffle furnace (450°C, 2 h). All analyses were carried out in 3–5 replicates. Protein, carbohydrate and lipid concentrations were converted to carbon equivalents by using the following conversion factors: 0.49, 0.40 and 0.75 ug of C ug<sup>-1</sup>, respectively. The sum of protein, carbohydrate and lipid carbon was referred to as biopolymeric carbon (BPC) (Fabiano *et al.* 1995) and the bioavailable organic carbon (%) was determined according to the equation:

$[(\text{total biopolymeric carbon} \times 100)/\text{total biopolymers}]$ . The unavailable organic carbon (%) was determined according to the equation:  $(100 - \text{total biopolymeric carbon})$ .

Esterase enzyme activity was analyzed according to Stubberfield & Shaw (1990). It is based on fluorogenic compounds, which are enzymatically transformed into fluorescent products that can be quantified by spectrophotometric assay. These enzymes act on biopolymers and transform them into low-molecular-weight organic carbon. The results are in  $\mu\text{g fluorescein/h/g}$  of sediment.

Electron transport system activity was measured according to Trevors (1984) and Hourri-Hourri-Davignon & Relexans (1989), based on dehydrogenase enzyme activities. These enzymes provide equivalents for ATP synthesis (third phosphate adenosine) in the electron transport systems. Results from this assay are in  $\mu\text{L O}_2/\text{h/g}$  of sediment.

Metabolic bacterial activity such as aerobic, facultative anaerobic, denitrification and sulfate reduction was measured using methodology described by Alef & Nannipieri (1995).

Bacterial carbon (BC) was enumerated by epifluorescent microscopy (Axiosp 1, Zeiss, triple filter Texas Red – DAPI – fluorescein isothiocyanate, 1000 X magnification) and using fluorochrome fluorescein diacetate and UV-radiation (Kepner & Pratt 1994). Carbon biomass ( $\mu\text{g C/g}$ ) data were obtained using the method described by Carlucci *et al.* (1986).

The statistic analyses utilized the core sediment samples and the parameters. Ward's method with City-block (Manhattan) distance is distinct from all other methods because it uses an analysis of variance approach to evaluate the distances between clusters. In short, this method attempts to minimize the Sum of Squares (SS) of any two (hypothetical) clusters that can be formed at each step. This distance is simply the average difference across dimensions. In most cases, this distance measurement yields results similar to the simple Euclidean distance. However, note that in this measurement the effect of single large differences (outliers) is dampened (since they are not squared). The analyses were performed with all analyses used in this study.

## RESULTS AND DISCUSSION

Granulometric fractions in the cores varied from sand to clay. Sedimentary layers were comprised of 25 - 89% silt, 4 - 20 % clay and 0 - 74 % sand. Following Fleming's (2000) classification, core samples were classified into 6 main groups: silt (E-I sample 7), slightly clayey silt (E-II samples 11, 12, 17, 23 and 24), extremely silty slightly sandy mud (D-I samples 8 and 9), extremely silty sandy mud (CI – samples 14, 15, 21 and 22), very silty sandy mud (CII – samples 1, 2, 4, 6 and 18) and very silty sand (B-I samples 3, 5, 10, 16, 19, 20 and 22) (Figure 3).

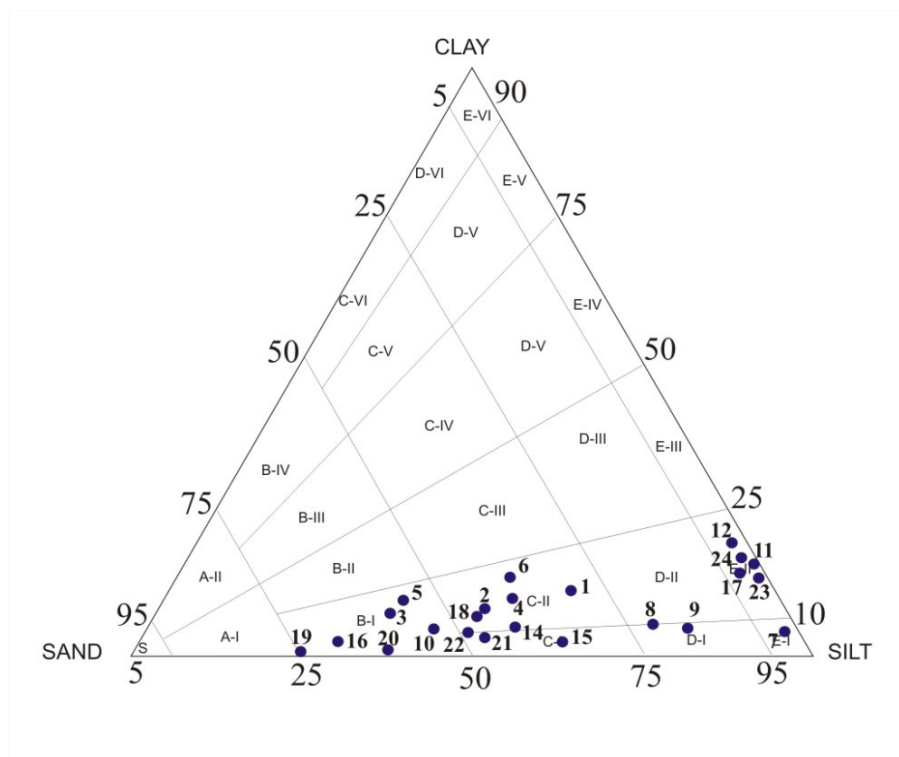


Figure 3 –Granulometric diagram of Suruí Mangrove cores.

Organic matter in the sedimentary layers varied from 1.3 to 4%, the largest values being determined in the top layers, with an average of 3%. The deepest layers presented an average of 1.5% (Table 1).

Our values agree with those determined by Da Silva *et al.* (2008), who analyzed a 30-point sampling grid in Guanabara Bay and found values between 0.59 and 7.99%. This proved similar to the results found by Catanzaro *et al.* (2004) and Baptista-Neto *et al.* (2006), who determined average levels of organic matter in these superficial sediments from Guanabara Bay ranging from 4 to 6%. The highest level of organic matter was found in the areas close to the Guapimirin APA (a protected environmental area), at 8.4%. Other levels of organic matter, ranging from 0.97 – 15.35%, were found in Ubatuba Bay in 38 superficial sediment samples (Burone *et al.* 2003). In a study on Italy's Apulian coast, Dell'Anno *et al.* (2002) found the total organic matter varying, along the first year, between 1.8 – 5.4%.

The organic compounds aggregated on the clay minerals in the water column, deposited in environments with low oxygen tension, accumulating and forming a sediment rich in

organic matter of suboxidic and anoxic conditions (Premuzic *et al.* 1982, Hedges *et al.* 1997). The biogenic component is generated *in situ* externally by biological processes, and includes microorganisms (bacteria, fungi, protozoans), plankton, decaying remains of organisms, fecal matter and marine and terrestrial plant debris or, from a biochemical standpoint, proteins, carbohydrates, lipids and pigments (Luthy *et al.* 1997). The quantity and quality of organic matter in surface sediments are recognized as major factors affecting benthic fauna dynamics and metabolism (Graf *et al.* 1983, Grant & Hargrave 1987).

The determination of carbohydrate, lipid and protein carbon might be suitable to estimate the fraction potentially available to sediment-ingesting organisms (Fichez 1991). Although this approach is not free from interpretation problems, it has been widely used (Fabiano & Danovaro 1994, Fabiano *et al.* 1995, Danovaro 1996).

Biopolymers were distributed over all sedimentary layers and varied widely. CHO had its largest and smallest concentrations in core 2 at 311.3 µg/g in the 0-3 cm layer and 110.6 µg/g in the 10-15 cm layer (Table 1). PTN also had

their largest and smallest concentration in core 2, at 403.1  $\mu\text{g/g}$  and 77.6  $\mu\text{g/g}$ , respectively (Table 1). LIP results were inferior to CHO and . Largest concentration was determined in core 1 at 99.1  $\mu\text{g/g}$ , and the smallest in core 2 at 11.6  $\mu\text{g/g}$  (Table 1).

The highest values for biopolymeric organic carbon were observed in all cores (Table 1). The largest concentration was determined in core 2 at 275  $\mu\text{g/g}$  and the smallest in core 3 at 130.9  $\mu\text{g/g}$ . Bioavailable carbon obtained uniform distribution in the 4 cores, ranging from 47-49% (Table 1).

Table 1 – OM, Carbohydrates, Proteins, Lipids, Biopolymers total, Biopolymeric carbon and Bioavailable carbon in core samples.

Core	Samples	OM	Biopolymers (mg/g)				Biopolymeric carbon ( $\mu\text{g/g}$ )	Bioavailable carbon (%)
			CHO	Protein	Lipid	Total		
T1	S1P0-3	1.3	189.2	184.7	56.6	430.5	208.6	48.5
	S1P5-10	1.5	200.8	212.7	55.8	469.3	226.4	48.2
	S1P10-15	2.0	261.4	138.2	99.1	498.7	246.6	49.4
	S1P15-20	1.6	232.8	146.3	64.3	443.4	213.0	48.0
	S1P20-25	1.9	155.0	113.5	71.8	340.3	171.4	50.4
	S1P25-30	1.5	201.1	156.3	74.2	431.6	212.7	49.3
T2	S2P0-3	1.8	311.1	215.9	60.7	587.7	275.8	46.9
	S2P5-10	2.2	160.0	403.1	19.2	582.4	276.0	47.4
	S2P10-15	4.0	110.6	277.1	11.6	399.3	188.7	47.3
	S2P15-20	1.5	190.6	163.3	26.1	380.0	175.8	46.3
	S2P20-25	1.3	187.2	77.6	28.0	292.9	133.9	45.7
	S2P25-30	2.1	189.4	115.9	58.6	363.9	176.5	48.5
T3	S3P0-3	3.0	127.2	127.8	23.1	278.2	130.9	47.0
	S3P5-10	3.6	122.5	170.6	30.3	323.3	155.3	48.0
	S3P10-15	1.9	171.9	158.4	39.9	370.2	176.3	47.6
	S3P15-20	1.9	223.9	148.0	39.0	410.9	191.3	46.6
	S3P20-25	0.9	271.4	175.9	60.4	507.7	240.0	47.3
	S3P25-30	1.3	240.8	147.0	48.2	436.0	204.5	46.9
T4	S4P0-3	3.4	113.3	145.1	34.7	293.1	142.4	48.6
	S4P5-10	3.2	156.4	210.0	35.8	402.2	192.3	47.8
	S4P10-15	2.7	207.5	198.8	66.3	472.6	230.1	48.7
	S4P15-20	2.1	153.9	246.1	31.8	431.8	206.0	47.7
	S4P20-25	1.3	207.2	182.1	62.4	451.8	219.0	48.5
	S4P25-30	1.5	237.2	166.7	42.3	446.2	208.3	46.7

Our values resembled those found by Da Silva *et al.* (2008), who determined protein (22 to 111  $\mu\text{g/g}$ ), carbohydrate (219 – 1483  $\mu\text{g/g}$ ) and lipid (64 – 1711  $\mu\text{g/g}$ ) variation in 30 superficial samples from Guanabara Bay, with biopolymeric carbon values ranging from 191 to 1684  $\mu\text{g/g}$ . Pusceddu *et al.* (1999) found 760-70530  $\mu\text{g/g}$  of carbohydrates, 2160-12100  $\mu\text{g/g}$  of proteins and 260-4470  $\mu\text{g/g}$  of lipids in the sediments from the western Mediterranean (Italy). Dell'Anno *et al.* (2002) found 4600

$\mu\text{g/g}$  of carbohydrates, 370-2100  $\mu\text{g/g}$  of proteins and >1000  $\mu\text{g/g}$  of lipids on the Apulian Coast of Italy. Total biopolymeric carbon in this work was also similar to the results found in the literature. Pusceddu *et al.* (1999) found values ranging from 2500-36100  $\mu\text{gC/g}$  in the sediments. However, Dell'Anno *et al.* (2002) found a variation of 900 to 6900  $\mu\text{gC/g}$  in the sediments. Pusceddu *et al.* (1999) and Dell'Anno *et al.* (2002) found the following relationship:

## CARBOHYDRATES > PROTEIN > LIPIDS.

In regard to the functional role of proteins, Dell'Anno *et al.* (2002) related it to the high levels of primary production, while Pusceddu *et al.* (1999) defined it as a limiting factor for benthic organisms. Higher lipid levels are associated to fine sediments from areas with lower hydrodynamics (Kjerfve *et al.* 1997, Amador 1980). Dell'Anno *et al.* (2002) associated the increase in lipid levels to the increase in depth, which was not verified in our results. In Guanabara Bay lipids were the most abundant polymers, after carbohydrates, due to the association with hydrophobic organic micropollutants (HOMs – including halogenated hydrocarbons, plasticizers, fused-ring hydrocarbons and pesticides) (Turner & Millward 2002). A raw sewage input in the order of  $20 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  (derived from a population of about  $7.3 \times 10^6$  inhabitants) is a major cause of environmental concern (Feema 1990). The uneven distribution of nonpoint sources of sewage has resulted in pronounced spatial gradients of contamination in bay water and sediments (Kjerfve *et al.* 1997, Valentin *et al.* 1999, Crapez *et al.* 2000, Baptista Neto *et al.* 2005, Brito *et al.* 2006). Carreira *et al.* (2003, 2004), and Pinturier-Geiss *et al.* (2002) highlighted that preservation of lipids in the sediments was linked to the prevailing anoxic condition.

Although several authors have identified the eutrophication process in various environments using biopolymeric ratios, this tool cannot be applied in the present study due to the heterogeneous results, probably linked to the greater speed of physico-chemical reactions in tropical environments (Fontana *et al.* 2009).

The available biopolymeric carbon average was approximately 50%. It is a function of organic matter that initially escapes remineralization due to rapid sinking, encapsulation or surface association and aggregation that may be enzymatically inaccessible in depths for the bacterial communities (Lee *et al.* 2004). This occurs with the adsorption of organic compounds onto a mineral matrix, and it has been suggested that organic matter in association with mineral material beyond that equivalent to a mono-layer coating might be due to its isolation from oxygen (Crapez 2007,

2008, Lee *et al.* 2004). According to Henrichs (1992), the labile portion of organic matter consists of simple or combined (e.g. biopolymers) compounds, which include carbohydrates, lipids and proteins that are rapidly mineralized. Some labile compounds may become recalcitrant to degradation as a result of complex interactions between the sedimentary matrix and/or refractory organic molecules (Keil *et al.* 1994).

Sedimentary organic matter is dominated by carbohydrates (46%), followed by proteins (42%) and lipids (12%), indicating great concentration of bioavailable substances to the microbiota. Complexation of this bioavailable organic matter with polluting organic substances present in the area (Fontana *et al.* 2009) makes it recalcitrant.

The large concentrations of high nutritional value organic matter in the sediments suggest that the latter behave as detritic traps. Considering that the main sources of organic matter in mangroves are vascular plants, it is not directly bioavailable to benthic consumers, and tends to accumulate. Other studies are needed to shed light on the dynamics and secondary production of bacterial communities, focusing on the large detritic accumulation in the sediments.

Bacterial carbon (BC) presented similarities in the vertical distribution of cores 1 and 2. The largest concentration was  $1.7 \mu\text{gC}/\text{cm}^3$  in core 1, and the smallest  $0.4 \mu\text{gC}/\text{cm}^3$  in core 2. Likewise, cores 3 and 4 presented similarities in their vertical distribution, the largest concentration being  $1.1 \mu\text{gC}/\text{cm}^3$  in core 4, and the smallest  $0.4 \mu\text{gC}/\text{cm}^3$  in core 3 (Table 2). Bacterial distribution in Suruí Mangrove sediments is governed by water flow, by grain differences in the sedimentary layers and by the quality of organic matter available for degradation.

Marine sediments are intensively colonized by microorganisms (bacteria, cyanobacteria, fungi, algae; size  $\ll 150 \mu\text{m}$ ). Most are organized in biofilms, complex associations of microbes immobilized on surfaces and embedded in an extracellular organic matrix, consisting of extracellular polymeric substances (EPS) secreted by the cells. Through their organization in biofilms, organisms create their own

microhabitats with pronounced gradients of biological and chemical parameters. Along these gradients they can use substrates and energy effectively (Meyer-Reil 1994). Microorganisms are present in sediments in high numbers (about  $10^{10}$  cells  $g^{-1}$  d.w.). Their biomass is greater than the biomass of all other benthic organisms. The cell surface of microbes by far exceeds that of all other organisms. Microbes possess a high surface-to-volume ratio, indicating their high metabolic activity rates. Dissolved inorganic and organic substrates can be metabolized with high substrate affinity and specificity. Particulate organic matter can be decomposed in close contact with the substrate by hydrolytic enzymes. Besides oxygen, microbes may use alternative electron acceptors (nitrate, manganese, iron, sulfate, and carbon dioxide) for the oxidation of organic material. Combined with their logarithmic growth and short generation times (less than 1 h), microbes possess a high metabolic potential (Meyer-Reil & Koster 2000).

Due to the anoxic sedimentary environment, hydrolysis of organic matter biopolymers is carried out by anaerobic bacteria, with high esterase enzyme activity and less electron transport system activity. Anaerobic processes such as fermentation, denitrification and sulfate reduction are energetically less efficient, but are the ones responsible for the biogeochemical cycles in Guanabara Bay sediments (Da Silva *et al.* 2008). This hypothesis is borne out by the low activity of the electron transport system, responsible for the energy synthesis process and, concomitantly, of biomass. Other studies corroborate this statement (Relexans *et al.* 1992; Fenchel *et al.* 1988; Edwards *et al.* 2005). Electron transport system activity (ETSA) yielded lower concentrations than esterase activity (EST). ETSA presented its largest concentration in cores 2 and 3 at  $0.5 \mu g O_2/h/g$ . In core 2 no activity was detected in the 0-3 and 5-10 cm layers (Table 2). The lowest concentration was  $0.4 \mu g O_2/h/g$  in core 1. Between layers in each core ETSA displayed considerable variation, possibly resulting from water flow, quality of organic matter (proteins, lipids and carbohydrates) and grain type.

EST presented its highest concentration in core 1 at  $1.2 \mu g$  of fluorescein/h/g in the 0-3 cm layer. Its lowest concentration was  $0.04 \mu g$  of fluorescein/h/g in core 2.

All our values were similar to those found for the environments that compose Guanabara Bay. Crapez *et al.* (2001) determined  $0.54 \mu g$  of fluorescein/h/g for esterase activity and  $0.31 \mu L O_2/h/g$  for electron transport system activity in sandy sediments from Praia de Boa Viagem (Guanabara Bay). In another study with sediments from the same site, Crapez *et al.* (2003) found different patterns in enzymatic determinations performed at different seasons of the year. Esterase activity and electron transport system activity were highest in samples from Niterói Harbor (Guanabara Bay), at  $3.63 \mu g$  fluorescein/h/g and  $3.38 \mu L O_2/h/g$ , respectively (Baptista-Neto *et al.* 2004). Da Silva *et al.* (2008), sampling 30 points of superficial sediment along Guanabara Bay, found an average value of  $3.20 \mu g$  of fluorescein/h/g for esterase activity and low electron system transport activity concentrations at only 15 points.

Bacterial respiratory activity (Table 2) indicated an overlapping of aerobic and facultative anaerobic results in all cores, presented aerobic process in few layers. Sulfate-reduction and denitrification, anaerobic processes, were present in all superficial layers. These results indicate that the metabolism responsible for the organic matter and nutrient cycle are effected by an anaerobic bacterial food web that can use electron acceptors like nitrogen, iron, manganese and sulfur derived from continental and coastal erosion, according to Turner & Millward (2002). After polymer break, monomers and oligomers are carried into the cell, becoming available for the oxide reduction reactions that will culminate in the production of energy. However, the facultative anaerobic, denitrification and sulfate reduction processes produce 50, 100 and 170 kJ/mol, respectively, as opposed to the aerobic process, which produces 500 kJ/mol (Edwards *et al.* 2005).

Among anaerobic bacteria, sulfate-reducing bacteria (SRB) have been important through much of Earth's 4.6 Ga history. Isotopic evidence indicates that sulfate reduction evolved at least 3.7 Ga ago, well before the

evolution of oxygenic photosynthesis and of cyanobacteria (Shen & Buick 2004).

SRB are predicted to facilitate precipitation of calcium carbonate ions in solution. These bacteria impact the pH, because for every sulfate and every two organic carbons consumed, one calcium carbonate can potentially precipitate (Baumgartner *et al.* 2006). The results demonstrated that SRB were found in all sediments cores from Suruí Mangrove because they utilize energy field based electron acceptors: first oxygen, then nitrate/nitrite and finally sulfur compounds (e.g., sulfate, sulfite, thiosulfate and elemental sulfur) (Krekeler & Cypionka 1995). An association of SRB and denitrification microorganisms could also explain our results. When SRB reduce nitrate/nitrite and produce ammonia nitrogen, denitrifying bacteria can carry out anaerobic oxidation, with generation of dinitrogen gas (Shivaraman & Shivaraman 2003).



TABLE 2: Bacterial carbon, heterotrophic bacteria, metabolism bacterial activity and esterase activity in core samples.

Core	Samples (cm)	BC ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )	MBA				EST ( $\mu\text{g}$ fluorescein/h/g)	ETSA ( $\mu\text{g}$ O <sub>2</sub> /h/g)
			A	F	DN	SR		
T1	0-3	0.56	V	P	P	P	1.24	0.16
	5-10	0.46	V	P	P	P	1.21	0.18
	10-15	1.06	V	P	P	P	0.55	0.31
	15-20	1.64	V	P	P	P	0.56	0.05
	20-25	0.61	V	P	P	P	0.38	0.05
	25-30	1.73	A	P	P	P	0.49	0.04
T2	0-3	1.11	P	P	P	P	1.03	0.00
	5-10	0.42	V	V	P	V	0.28	0.00
	10-15	1.04	P	P	P	V	0.15	0.06
	15-20	1.59	V	P	P	P	0.04	0.17
	20-25	0.40	A	P	P	P	0.34	0.50
	25-30	0.73	A	P	P	P	0.26	0.22
T3	0-3	0.94	V	V	P	P	0.26	0.13
	5-10	1.34	V	P	P	V	0.41	0.59
	10-15	0.98	V	P	P	P	0.39	0.19
	15-20	0.51	V	P	P	P	0.33	0.46
	20-25	1.01	A	P	P	P	0.42	0.18
	25-30	0.84	V	V	P	P	0.57	0.24
T4	0-3	1.08	P	P	P	P	0.73	0.48
	5-10	0.79	P	P	P	P	0.63	0.45
	10-15	0.50	P	P	P	P	0.53	0.57
	15-20	0.87	V	P	P	P	0.51	0.48
	20-25	1.04	P	P	V	P	0.47	0.20
	25-30	0.35	V	P	A	P	0.27	0.24

BC – bacterial carbon; MBA – metabolism bacterial activity; EST – esterase enzymes; A – aerobic; F – facultative anaerobic bacteria; DN – denitrification; SR – sulfate reduction; P – positive; V – variable; ND – not detected.

The analyses of parameters utilizing Ward's Method and Manhattan Distance showed three groups. The first group was formed by silt and clay. The second was formed by BC, EST and

the sources of available carbon in the sediments, such as PTN, CHO and LIP. The last group was formed by sand, ETSA and OM (Figure 4).

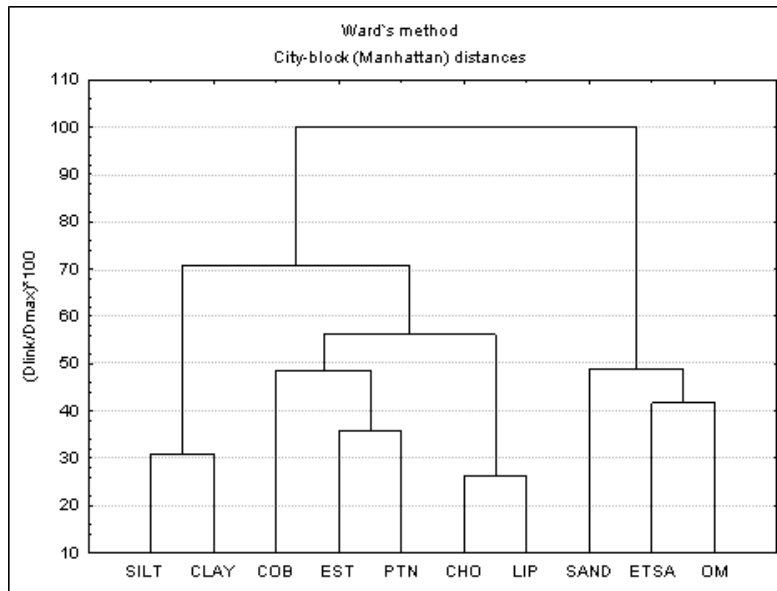


Figure 4 – Grouping of parameters using Ward's method and Manhattan distance.

Correlation analyses using parameters showed two positive correlations. The first was between clay and silt, and may have been caused by the mineralogical composition, which has definite effects on the clay fraction, with consequences to the silt fraction. The second was between CHO and LIP. This correlation does not mean that the presence of one necessarily causes the presence of the other. To state that, specific experiments would have to be conducted. There is thus the possibility of connective processes,

which might act in a wide, complex system. The negative correlations between sand, silt and clay demonstrated differences in mineralogical composition, which influence the presence of fractions. These differences are the result of the greater presence of the sand fraction, due to the occurrence of *chernies*. The negative correlation between biopolymers demonstrates the quality of organic matter composition (Table 3).

Table 3 – Correlations for all parameters.

Correlations Marked correlations are significant at $p < .05000$ N=23 (Casewise deletion of missing data)										
	OM	LIP	PTN	CHO	ETSA	EST	BC	SAND	CLAY	SILT
OM	1,00									
LIP	<b>-0,44</b>	1,00								
PTN	0,24	-0,35	1,00							
CHO	<b>-0,70</b>	<b>0,63</b>	-0,15	1,00						
ETSA	0,29	-0,10	-0,26	-0,23	1,00					
EST	-0,14	0,31	0,09	0,20	0,05	1,00				
BC	0,18	0,02	-0,13	0,00	-0,14	-0,30	1,00			
SAND	0,39	0,00	-0,14	-0,36	0,36	0,08	0,16	1,00		
CLAY	<b>-0,59</b>	0,28	-0,26	0,41	-0,24	-0,07	-0,25	<b>-0,81</b>	1,00	
SILT	-0,31	-0,07	0,23	0,32	-0,36	-0,07	-0,13	<b>-0,99</b>	<b>0,70</b>	1,00

## CONCLUSION

Organic matter in high concentrations, characterizing an anoxic environment, indicates a greater presence of viable anaerobic bacteria through the cores, observed by the high concentrations of bacterial carbon. In this way, diagenesis of organic matter occurs through the cores where an expressive biomass of anaerobic bacteria exists, and the esterase enzymes, rather than investing in highly complex organic compounds, prefer biopolymers, which are present in high concentrations and are less complex.

Tide inflow due to the flat topography (Fontana *et al.* 2009) favors a greater distribution of organic compounds over the mangrove, thus facilitating incorporation into superficial sediments and the establishment of aerobic bacteria which partly contribute to the diagenesis of carbon, nitrogen and the nutrients that result in products that maintain facultative anaerobic, denitrifying and sulfate-reducing bacteria.

The location of core 1 at the back of Suruí Mangrove is a possible tide site for deposition of particulate matter, stabilized by the tides and the surrounding rivers, on the superficial layers. Core 2 is possibly localized in a more washed-over region and thus has less deposition of particulate matter. Core 3, in contrast, while close to the mangrove center, is reached by tide inflow and outflow and is thus washed on the superficial layers, but it is still possible to find high biopolymer concentration in the deeper layers. Core 4, although located in the area with greater inflow of Guanabara Bay waters, and although with high washing and mixing of sedimentary layers, was almost equally impacted, demonstrating a possible continuous impact of the area.

Suruí Mangrove shows indications of low-quality organic substances in the superficial and subsuperficial sediments, which hamper development of bacterial communities present throughout the sediment that are responsible for the transformations in the biogeochemical cycle.

Diagenesis of organic matter occurs along the four cores, where the anaerobic bacterial communities, with expressive biomass, govern the process through the activity of the esterase enzyme, with degradation of biopolymers.

Biopolymer concentrations were similar to the results found in the studies done in the northern hemisphere and in Guanabara Bay. However, biopolymeric carbon concentrations were 1000 times smaller, indicating the need for the establishment of new indices indicating the trophic levels present in tropical coastal systems.

## REFERENCES

- Alef K. & Nannipieri P. 1995. Enrichment, isolation and counting of soil microorganism. In: Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic press, 123-186.
- Amador ES. 1980. Assoreamento da Baía de Guanabara – taxas de sedimentação. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 52:723-742.
- Baptista Neto J.A., Smith B.J. & McAlister J.J. 2000. Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, Southeast Brazil. Environmental Pollution 109:1-9.
- Baptista Neto J. A. & Crapez M. A. C. 2004. Concentration and bioavailability of heavy metals in sediments from Niterói harbor

- (Guanabara Bay/S.E. Brazil). *Journal of Coastal Research* 20:1-7.
- Baptista Neto J.A., Crapez M.A.C., McAlister J.J. & Vilela C.G. 2005. Concentration and bioavailability of heavy metals in sediments from Niterói harbour (Guanabara Bay/S.E. Brazil). *Journal of Coastal Research*, 20:1-7.
- Baptista Neto J. A., Gingele F.X., Leipe T. & Brehme I. 2006. Spatial distribution of heavy metals in superficial sediments from Guanabara Bay: Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Geology*, 49:1051-1063.
- Baumgartner L.K., Reid R.P., Dupraz C., Decho A.W., Buckley D.H., Spear J.R., Przekop K.M. & Visscher, P.T. 2006. Sulfate reducing bacteria in microbial mats: changing paradigms, new discoveries. *Sedimentary Geology*, 185:131-145.
- Burone L., Muniz P., Pires-Vanin A.M. & Rodrigues M. 2003. Spatial distribution of organic matter in the surface sediments of Ubatuba Bay (Southeastern – Brazil). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 75:77-90.
- Brito E.M.S.; Guyoneaud R.; Goñi-Urriza M.; Ranchou-Peyruse A.; Verbaere A.; Crapez M.A.C., Wasserman J.C.A. & Duran R. 2006. Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil. *Research in Microbiology* 157:752–762.
- Byers S., Mills E. & Stewart P. 1978. Comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiologia* 58:43-47.
- Carlucci A.F., Craven D.B., Robertson D.J. & Willians P.M. 1986. Surface-film microbial populations diel amino acid metabolism, carbon utilization and growth rates. *Marine Biology* 92:289-297.
- Carreira R.S. & Wagener A.L.R. 2003. Caracterização da matéria orgânica sedimentar na Baía de Guanabara através de marcadores moleculares. *Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ*. 26:79-91.
- Carreira R.S., Wagener A.L.R. & Readman J.W. 2004. Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space time variations. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 60:587-598.
- Catanzaro L.F., Baptista-Neto J.A., Guimarães M.S.D. & Silva C.G. 2004. Distinctive sedimentary processes in Guanabara Bay – SE/Brazil, based on the analysis of echo-character (7.0 kHz). *Revista Brasileira de Geofísica*, 22:69-83.
- Colombo J.C., Silverberg N., Gearing J.N. 1996. Biogeochemistry of organic matter in the Laurentian trough, II. Bulk composition of the sediments and relative reactivity of major components during early diagenesis. *Marine Chemistry* 51:295–314.
- Cowie G.L. & Hedges J.I. 1992. The role of anoxia in organic matter preservation in coastal sediments: relative stabilities of the major biochemicals under oxic and anoxic depositional conditions. *Organic Geochemistry*, 19:229–234.
- Crapez M.A.C, Tosta Z.T, Bispo M.G.S & Pereira D.C. 2000. Acute and chronic impacts caused by aromatic hydrocarbons on bacterial communities at Boa Viagem and

- Forte do Rio Branco Beaches, Guanabara Bay, Brazil. *Environmental Pollution*, 108:291-295.
- Crapez M.A.C., Cavalcante A.C, Bispo M.G.S. & Alves P.H. 2001. Distribuição e atividade enzimática de bactérias nos limites inferior e superior entre-marés na Praia de Boa Viagem, Niterói, R.J., Brasil. Efeito de poluentes em organismos marinhos, Moraes R. *et al.* (Eds) São Paulo, Arte e Ciência, Villipress, 129-138.
- Crapez M.A.C., Baptista Neto J.A. & Bispo M. G.S. 2003. Bacterial Enzymatic Activity and Bioavailability of Heavy Metals in Sediments From Boa Viagem Beach (Guanabara Bay). *Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ*, 26:58-64.
- Crapez M.A.C. 2007. Bactérias Marinhas. In: *Biologia Marinha*. Editora Interciência, Rio de Janeiro (in press).
- Crapez M.A.C. 2008. Microorganismos. In: J. A. Baptista Neto; M. Wallner-Kersanach; S. M. Patchineelam. (Org.). *Poluição Marinha*. Rio de Janeiro: Interciência, 21p.
- Da Silva F.S., Pereira D.C., Nuñez L.S., Krepsky N., Fontana L.F., Baptista Neto J.A. & Crapez M.A.C. 2008. Bacteriological study of the superficial sediments of Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 56:13-22.
- Danovaro R. 1996. Detritus-bacteria-meiofauna interactions in a seagrass bed (*Posidonia oceanica*) of the NW Mediterranean. *Marine Biology*, 127:1–13.
- Danovaro R., Dell'anno A., Pusceddu A., Fabiano M. 1999. Nucleic acid concentrations (DNA, RNA) in the continental and deep sea sediments of the eastern Mediterranean: relationships with seasonally varying organic inputs and bacterial dynamics. *Deep-Sea Research I* 46, 1077–1094.
- Dell'Anno, A., Mei, M.L., Pusceddu, A., & Danovaro, R. 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal biochemical composition of sediment organic matter. *Marine Pollution Bulletin* 44: 611-622.
- Demaison, G.J. & Moore, G.T. 1980. Anoxic environments and oil source bed genesis. *Organic Geochemistry*, 2: 9-13.
- Dubois, M., K. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers & F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350–356.
- Edwards, K.J., Bach, W. and McCollom, T.M. 2005. Geomicrobiology in oceanography: microbe-mineral interactions at and below the seafloor. *Trends Microbiology* 13, 449-455.
- Egler C.A.G., Cruz C.B.M., Madsen P.F.H., Costa S.M. & Silva E.A. 2003. Proposta de zoneamento ambiental da Baía de Guanabara. *Anuário do Instituto de Geociências (UFRJ)* 26:127-138.
- Emerson S., Fischer K., Reimers C., Heggie D. 1985. Organic carbon dynamics and preservation in deep-sea sediments. *Deep-Sea Research*, 32:1–21.
- Fabiano M. & Danovaro R. 1994. Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): Relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. *Hydrobiologia*, 277:71–84.

- Fabiano M., Danovaro R. & Fraschetti S. 1995. A three-year time series of elemental and biochemical composition of organic matter in subtidal sediments of the Ligurian Sea (northwestern Mediterranean). *Continental Shelf Research*, 15:1453–1469.
- FEEMA. 1990. Projeto de recuperação gradual da Baía de Guanabara, Vol. 1. Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 203p.
- Fenchel T., King G.M. & Blackburn T.H. 1988. Bacterial biogeochemistry: the ecophysiology of mineral cycling. 2nd Edition, Academic Press, 307 p.
- Fichez R. 1991. Composition and fate of organic matter in submarine cave sediments: implications for the biogeochemical cycle of organic carbon. *Oceanologica Acta*, 14:369–377.
- Fiordelmondo C., Pusceddu A. 2004. Short-term response of benthic bacteria and nanoflagellates to sediment resuspension: an experimental study. *Chemistry and Ecology*, 20:107–121.
- Flemming B.W. 2000. A revised textural classification of gravel-free muddy sediments on the basis of ternary diagrams. *Continental Shelf Research*, 20:1125-1137.
- Fontana L.F., Da Silva F.S., Figueiredo N.G., Brum B.M., Pereira Netto A.D., Figueiredo Jr. A.G., Crapez M.A.C. (2009). Superficial distribution of aromatic substances and geomicrobiology of sediments from Suruí Mangrove, Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, submetido.
- Furukawa K., Wolanski E. & Mueller H. 1997. Currents and sediment transport in mangrove forests. *Estuarine Coastal Shelf* 44:301-310.
- Gerchacov S.M. & Hatcher P.G. 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediment. *Limnologia Oceanography*, 17:938–943.
- Graf T., Shulz R., Peinert R. & Meyer-Reil L.A. 1983. Benthos response to sedimentation during autumn to spring at a shallow water station in the western Kiel bight. I. Analysis of the processes on the community level. *Marine Biology*. 77:235–246.
- Grant J. & Hargrave B.T. 1987. Benthic metabolism and the quality of sediment organic carbon. *Biological Oceanography*. 4:243–264.
- Hartree E.F. 1972. Determination of proteins: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry*. 48:422–427.
- Hedges J.I., Keil R.G. & Benner R. 1997. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Organic Geochemistry*, 27:195-212.
- Henrichs S.M. (1992) Early diagenesis of organic matter in marine sediments: progress and perplexity. *Marine Chemistry* 39:119–149.
- Houri-Davignon C. & Relexans J-C. 1989. Measurement of actual electron transport system (ETS). Activity in marine sediments by incubation with INT. *Environmental Technology Letters*, 10:91-100.
- Keil R.G., Montlucon D.B., Prah F.G., Hedges J.I. 1994. Sorptive preservation of labile organic matter in marine sediments. *Nature* 370:549–552
- Kepner Jr. & Pratt J.R. 1994. Use of fluorochromes for direct enumerations of total bacteria in environmental samples: past and

- present. *Microbiological Reviews*, 58:603-615.
- Kjerfve B., Ribeiro C., Dias G., Filippo A. & Quaresma V. 1997. Oceanographic characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil. *Continental Shelf Research*, 17:1609-1643.
- Krekeler D. & Cypionka H. 1995. The preferred electron acceptor of *Desulfovibrio desulfuricans*. *CSN FEMS in microbiology and Ecology*, 17:271-278.
- Lee C., Wakeham S. & Arnosti C. 2004. Particulate organic matter in the Sea: the composition conundrum. *Royal Swedish Academy of Science*, 33:565-575.
- Luthy R.G., Aiken G.R., Brusseau M.L., Cunningham S.D., Gschwend P.M., Pignatello J.J., Reinhard M., Traina S.J., Weber W.J.Jr. & Westall J.C. 1997. Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents. *Environmental Science and Technology* 31:3341-3347.
- Marsh J.B. & Wenstein D.B. 1966. A simple charring method for determination of lipids. *Journal of Lipids Research*, 7:574-576.
- Meyer-Reil L.A. 1994. Microbial life in sedimentary biofilms - the challenge to microbial ecologists. *Marine Ecology Progress Series*, 112:303-311.
- Meyer-Reil L.A. & Köster M. 2000. Eutrophication of Marine Waters: Effects on Benthic Microbial Communities. *Marine Pollution Bulletin*, 41:255-263.
- Mitchel J. 2000. Assessment and recommendations for the oil spill cleanup of Guanabara Bay, Brazil. *Spill Science and Technology*, 6:89-96.
- Pignatello J.J. 2003. Sorption of small molecules to natural organic matter from humic acid to black carbon: a perspective on the nature pores. *Geophysical Research Abstract*, 5:12575.
- Pinturier-Geiss L.L., Mejanelle L., Dale B. & Karlsten D.A. 2002. Lipids as indicators of eutrophication in marine coastal sediments. *Journal of Microbiological Methods*, 48:239-257.
- Premuzic E.T., Benkovitz C.M., Gaffney J.S. & Walsh J.J. 1982. The nature and distribution of organic matter in the surface sediments of world oceans and seas. *Organic Geochemistry*, 4:63-77.
- Pusceddu A., Sara G., Armeni M., Fabiano M. & Mazzola A. 1999. Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea). *Hydrobiologia*, 397:59-70.
- Relexans J.C., Lin R.G., Castel J., Etcheber H., Laborde P. 1992. Response of biota to sedimentary organic matter quality of the West Gironde mud patch, Bay of Biscay (France). *Oceanologica Acta*, 15:639-649.
- Rice D.L. 1982. The detritus nitrogen problem: new observations and perspectives from organic geochemistry. *Marine Ecology Progress Series*, 9:153-162.
- Sepers A.B.J. 1981. Diversity of ammonifying bacteria. *Hydrobiologia*, 83:343-350.
- Shen Y. & Buick R. 2004. The antiquity of microbial sulfate reduction. *Earth Science Reviews*, 64:243-272.
- Shivaraman N. & Shivaraman G. 2003. Anammox – A novel microbial

- process for ammonium removal. *Current Science*, 84:1507-1508.
- Soares M.L.G., Silva Jr. C.M.G., Cavalcanti V.F., Almeida P.M.M., Monteiro A.S., Chaves F.O., Estrada G.C.D. & Barbosa B. 2006. Regeneração de floresta de mangue atingida por óleo na Baía de Guanabara (Rio de Janeiro, Brasil): Resultados de 5 anos de monitoramento. *Geochemistry Brasiliensis* 20:54-77.
- Stubberfield L.C.F. & Shaw P.J.A. 1990. A comparison of tetrazolium reduction and FDA hidrolisis with other measures of microbial activity. *Journal of Microbiology Methods*, 12:151-162.
- Trevors J. 1984. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O<sub>2</sub> concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil. *Water Research*, 77:285-293.
- Tselepides A., Polychronaki T., Marralle D., Akoumianaki I., Dell'Anno A., Pusceddu A. & Danovaro R. 2000. Organic matter composition of the continental shelf and bathyal sediments of the Cretan Sea (NE Mediterranean). *Progress in Oceanography*, 46:311-344.
- Turner A. & Millward G.E. 2002. Suspended particles: their role in estuarine biogeochemical cycles. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55:857-883.
- Valentin J., Tenenbaum D., Bonecker A., Bonecker S., Nogueira C., Paranhos R. & Villac M.-C. 1999. Caractéristiques hydrobiologiques de La Baie de Guanabara (Rio de Janeiro, Brésil). *Journal du Recherche Océanographique* 24:33-41.



### **7.3. Characterization and Distribution of PAHs in Sediments of Suruí Mangrove from, Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil**

Luiz Francisco Fontana<sup>1</sup>, Mirian Araújo Carlos Crapez<sup>2</sup>, Alberto Garcia Figueiredo Junior<sup>1</sup>, Elisamara Sabadini Santos<sup>2</sup>, João Graciano Mendonça Filho<sup>3</sup>, Luciana Pereira Chequer<sup>2</sup>, Angelo Morgado Ribeiro<sup>4</sup> e Annibal Duarte Pereira Netto<sup>4</sup>.

1 – Programa de Pós Graduação em Geologia e Geofísica Marinha, Universidade Federal Fluminense. Av. General Milton de Tavares de Souza, s/nº - 4º andar – Campus da Praia Vermelha - Gragoatá, Niterói, RJ, Brazil. CEP 24210-340.

2 - Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal Fluminense. Outeiro de São João Batista, s/n, Valonguinho, Centro – Niteroi, RJ, Brazil. CEP 24020-141.

3- Programa de Pós Graduação em Geologia, Instituto de Geologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Av. Athos da Silveira, 274 (prédio do CCMN), bloco J, sala JI20, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. CEP 21949-900.

4 - Programa de Pós Graduação em Biologia Marinha, Universidade Federal Fluminense, Cx postal: 100.644, Niterói, RJ, Brazil. CEP 24001-970

Correspondence to: L. F. Fontana – lffontana@hotmail.com

Não submetido

Resumo

Quatro testemunhos foram coletados no Manguezal de Suruí, Baía de Guanabara. Os testemunhos com 30 cm foram fatiados em camadas de 0-3; 5-10; 10-15; 15-20; 20-25 e 25-30 cm, Foi analisado a presença de HPAs nas diversas camadas sedimentares. As concentrações de  $\sum$ HPAs variaram de 4.4 – 1387.0  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , indicando uma contaminação localizada e confinada a pequenas áreas dentro do mesmo ambiente. O enxofre total e o carbono orgânico total variam de 0.01% a 2.6% e 0.8 a 7.8 %, respectivamente demonstrando discreto aumento com a profundidade, o que indica a migração de material orgânico e para as camadas inferiores. Os perfis de profundidade demonstram que tanto a superfície quanto as camadas de fundo possuem altas concentrações de HPA de alto peso

molecular, e que o testemunho retirado na região mais próxima ao fundo do mangue apresentou maiores concentrações de HPAs de baixo peso molecular.

Palavra-Chave: Carbono orgânico total, enxofre, mangrove, HPAs and TTEF.

#### Abstract

Four cores had been collected in the Suruí Mangrove, Guanabara Bay. The cores with 30 cm had been sliced in layers of 0-3; 5-10; 10-15; 15-20; 20-25 and 25-30 cm, was analyzed the presence of PAHs in the several sedimentary layers. The concentrations of  $\sum$ PAHs had varied of 4.4 – 1387.0  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , indicating a contamination located and confined the small areas inside of the same surrounding. Total sulphur and the total organic carbon vary from 0.01% to 2.6% and 0.8 to 7.8%, respectively demonstrating discrete increase with the depth, what it indicates provavely the migration of organic matter for the inferior layers. The depth profiles demonstrate that as much the surface how much the layers of deep possess high concentrations of PAH of high molecular weight, and that core removed in the region next to the deep one to the fen presented greaters concentrations of PAHs of low molecular weight.

KeyWords: Total organic carbon, sulphur, mangrove, PAHs and TTEF.

### 1) INTRODUCTION

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are environmental contaminants of concern since many of them and many PAH mixtures exhibit mutagenic and/or pro-carcinogenic properties to humans and animals (Pereira Netto *et al.* 2000). The relative stability and persistence of PAHs in the environment makes their evaluation a task of interest in environmental studies.

Anthropogenic inputs from fuel combustion, pyrolytic processes, waste incinerators, domestic heaters and spillage of petroleum products have resulted in a significant accumulation of PAHs in the environment (Freeman and Cattell 1990). Oil spills can have a number of deleterious effects on the various coastal environments, but mangrove forests have been assigned the highest sensitivity ranking when compared with other coastal environments (Getter *et al.* 1985). Because of their low solubility and high

hydrophobicity, PAHs entering the marine environment preferentially adsorb onto particulates and finally accumulate in bottom sediments.

Mangrove ecosystems commonly found in the inter-tidal zone of tropical and subtropical regions are often under pollution stress representing sinks or receivers of various man-made pollutants (Tam and Wong 1999; Zheng *et al.* 2000). In addition to contaminated tidal water, inputs from rivers or streams, storm-water run-off, sewage discharges and atmospheric deposition are possible sources of PAHs. Like other coastal environments, mangrove ecosystems are exposed to PAH contamination from accidental or chronic oil spills (Getter *et al.* 1984). The intrinsic characteristics of mangrove environments, including the relatively high organic matter and sulfide contents in their sediments, the anoxic conditions 1–3 cm below the surface sediment layer, the low energy nature of the environment, and the reduced current flow allow the deposition and accumulation of contaminants in mangrove sediments. Elevated concentrations of many contaminants, including heavy metals, PCBs and PAHs, have been described in mangrove sediments where they persisted for a long time (Tam and Wong 1999, 2000; Ke *et al.* 2002; Zheng *et al.* 2002).

Suruí River mangrove is located in Magé Municipality, Rio de Janeiro State, Brazil. In January 17<sup>th</sup>, 2000 it was affected with several other ecosystems of this part of Guanabara Bay, RJ-Brazil by a spill of 1.300 m<sup>3</sup> of oil. This spill was caused by pipe breakage. By that time, it was estimated that 25% (325 m<sup>3</sup>) of the oil were volatilized, 40% (520 m<sup>3</sup>) were recovered and 35% (455 m<sup>3</sup>) were retained in mangroves and rock coastal (Mitchell 2000). Farias *et al.* (2008) showed that 4 years after the spill there were evidences of oil contamination in the deepest layers of sediments of Suruí mangrove. Besides this mangrove is daily affected by domestic sewage carried by Guanabara Bay waters (Carreira *et al.* 2001, 2004; Carreira & Wagener 2001; Soares *et al.* 2003).

The main objective of this work was the characterization and quantification of 16 selected PAHs in four sediment cores collected along a channel tide of Suruí Mangrove in order to evaluate the present PAH levels and sediment contamination.

## **STUDY AREA DESCRIPTION**

### **2) MATERIALS AND METHODS**

The Suruí River mangrove is located in Magé Municipality (7.489.800 S, 694.280 W), Rio de Janeiro State, Brazil with an area of approximately 80.000 – 100.000 m<sup>2</sup>. Since it is located north to the Guapimirim Environmental Protection Area (APA) it shares features with this APA (Fig. 1). Suruí Mangrove is bound by Morro da Solina to the west and by the RJ-116 highway to the north. Its importance increases by the presence of the Suruí River and the Suruí-Mirim Channel, both acting in some parts as boundaries to Guapimirim APA and by the fact that they flow into Guanabara Bay (Soares *et al.* 2006) (Figure 1).

Like most rivers in the region, Suruí River is constantly flooded and has predominantly flat topography, close to the sea level, which leads to the development of mangroves and the presence of *chernies* at the edges and fringes (Fontana *et al.* submitted).

Water flow through the mangrove is reduced by mangrove plants, characterizing complex current patterns, including jets, eddies and stagnant zones. The flow of suspended sediment shows that most of it returns and settles in the mangrove itself, being not re-exported (Furukawa *et al.* 1997).

The most predominant plant species in Suruí Mangrove and along most of the Suruí River's 3,600 m (from Suruí to the mouth) is the white mangrove (*Laguncularia racemosa*). There are also, interspersed, a few clusters of black mangrove (*Avicennia schaueriana*); close to the Suruí River mouth some clusters of red mangrove (*Rhizophora mangle*) can be found. The mangrove is under strong anthropic pressure, since due to the tidal regime it is possible to find, all around it, garbage that invades it by the fringe. The predatory practice of crab catching with raffia traps next to their burrows, the indiscriminate tree logging, landfill, draining and deforesting alter hydrological conditions and consequently, mangrove functioning, thus hampering management and conservation and constituting a great impact over the Guapimirim APA mangroves (Soares *et al.* 2006).

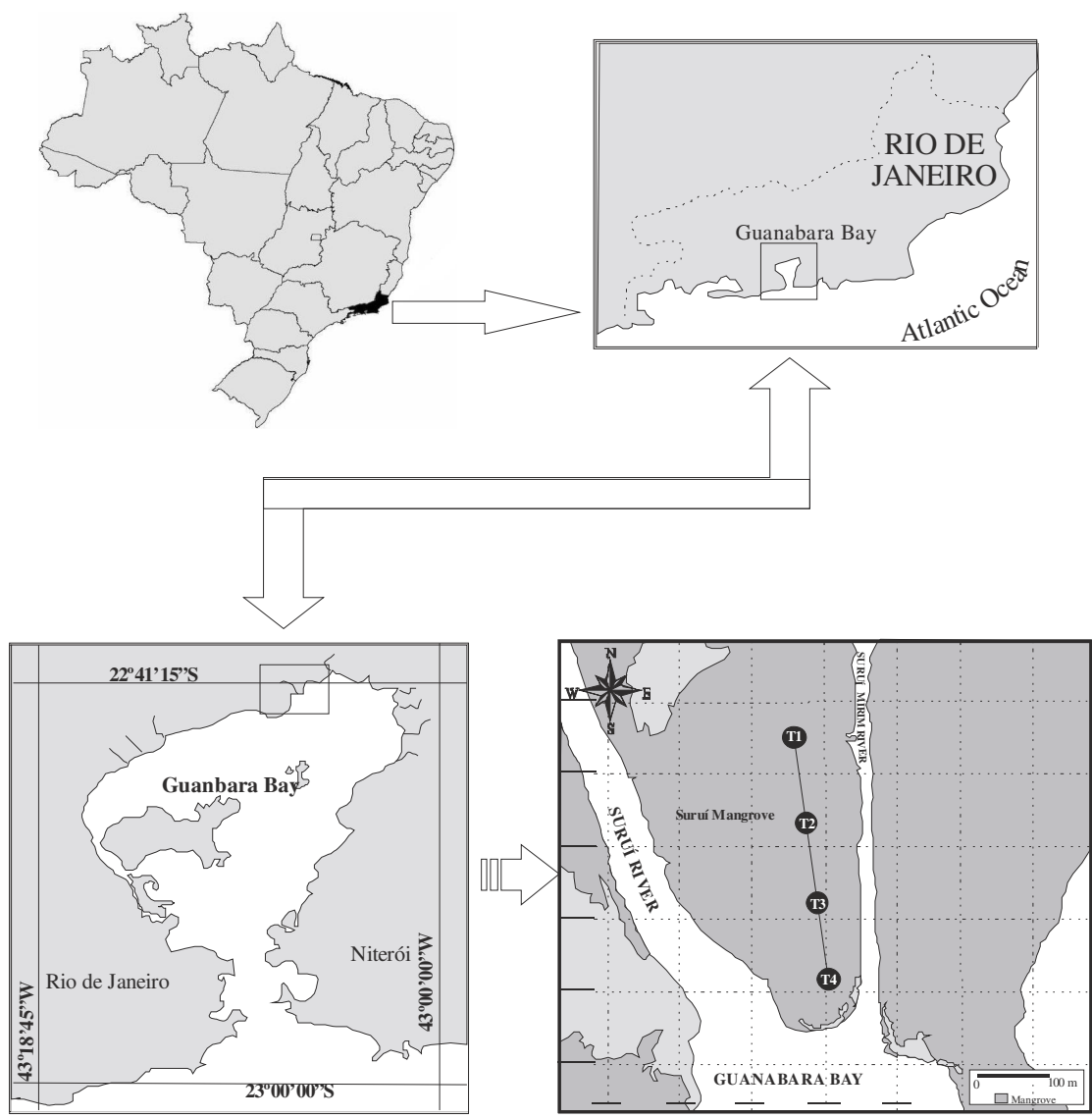


Figure 1 – Maps showing the localization of Rio de Janeiro State in Brazil, the localization of Suruí Mangrove in Rio de Janeiro State and the localization of sampling points.

### 2.1. Sample Collection

Sediment cores of 30 cm long were collected a transect along the mangrove (Fig. 2). The cores were collected by partially introducing aluminum tubes (100 mm i.d and 2 m long) in the sediment. The tubes were capped before being pulled from the sediment. The cores were taken out of the tube by pulling them out off the tube by a concentric metallic

extruder. The sediment core was cut with a stainless tool previously decontaminated. Samples corresponding to the depths of 0-3 cm, 5-10 cm, 10-15 cm, 15-20 cm, 20-25 cm e 25-30 cm were collected They were transferred to cleaned amber glass flasks that were completely filled with the samples. Samples were taken to the laboratory under refrigeration a 4<sup>0</sup>C and kept in freezer until extraction.

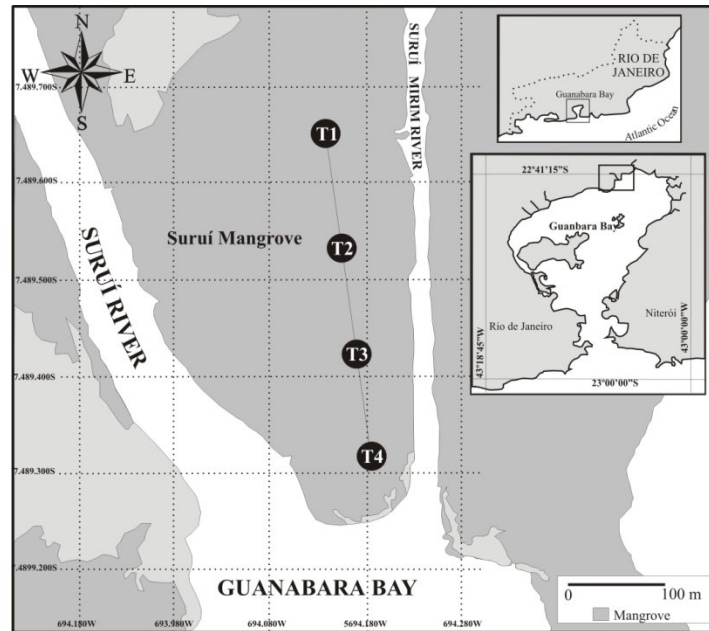


Figure 2 – Transect showing the sampling points localization in Suruí Mangrove.

### 2.3. Determination of total organic carbon and total sulphur

The determination of total organic carbon and total sulphur were performed in the samples of humid sediments, that had been weighed and with extractives treatments of dichloromethane in ultrasson, were removed the fraction of the extraction of dichloromethane of the samples. The sample was dries to evaporate the residue of the solvent (dichloromethane). The reading was made in third copy in device SC 144 of the LECO.

### 2.4. Chemicals and reagents

A standard solution containing the 16 priority EPA PAHs (0.2 mg/mL - AccuStandard, CT, USA) and solid PAHs from Sigma (MO, USA), Aldrich Chemical Co. (WI, USA) or

AccuStandard, (CT, USA) were used. Dichloromethane and acetonitrile (HPLC grade, Tedia, RJ, Brazil) were employed. Ultra-pure water was prepared in a Millipore Simplicity System (MA, USA).

## **2.5 Sample Processing and PAH extraction**

Sediment core samples were homogenized and air dried as previously described for soil samples (Pereira Netto *et al.* 2004a). Independent triplicates of 3g of each sample were precisely weighed and submitted to ultrasonic extraction as previously described for soil samples (Pereira Netto *et al.* 2004a) and street dust (Pereira Netto *et al.* 2004b, 2006). Briefly, samples were extracted with dichloromethane (5 steps of 5 mL; 20 min) in aluminum foil covered amber bechers. Combined extracts were concentrated up to 2 mL in rotary evaporator in temperatures below 40°C. Solvent exchange to acetonitrile was performed by adding 4 mL of this solvent to the flask followed by evaporation up to 1 mL. The final volume of acetonitrile was gravimetrically adjusted to 2 mL. Concentrated extracts were filtered through membrane filters (Millipore, 25 mm; 0.25 µm), transferred to 2 mL vials and kept in freezer until analysis.

## **2.6. PAH determination**

Qualitative and quantitative analysis of PAHs were performed by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLUO). PAH detection was carried out by programmed excitation and emission wavelengths. Four different emission wavelengths were used to evaluate possible matrix interferences. Quantitative analysis was performed in the excitation and emission maxima.

The HPLC consisted of a quaternary pump, an automated injector, a column oven and a fluorescence detector (all Agilent 1100 Series, USA). Separation was performed in a reverse phase column (Vydac 201TP54, 250 x 4.6 mm; 5 µm) with a guard column of the same characteristics (10 mm) and using a binary elution gradient consisting of acetonitrile (A) and water (B). The gradient was as follows: 50 % of A held for 10 min, increased linearly to 85 % of A during 10 min, held for 5 min, increased linearly to 95 % A during 3.5 min, held for 5 min and decreased to 50 % of A during 1.5 min to allow for equilibration before the subsequent injection (Brum and Pereira Netto 2009). It was

possible to complete a chromatographic run in around 30 min with good resolution of benzo[e]pyrene and the 16 EPA-PAHs. Acenaphthylene that cannot be detected by fluorescence due to its low fluorescence intensity was not evaluated in the samples. PAHs were identified by comparison of retention times with that of true standards.

Calibration curves were evaluated between 2.00 and 100  $\mu\text{g/L}$  with standard solutions containing all studied PAHs. Calibration curves were derived by least-squares regression. Equations of the calibration curves were also used to estimate the limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ) of each PAH. LODs and LOQs were obtained by dividing respectively three and ten times the signal to noise ratios by the angular coefficients of the calibration curves. Signal to noise ratios were estimated by the standard deviations of peak areas obtained after 10 subsequent injections of the 2.00  $\mu\text{g/L}$  standard. LODs and LOQs were expressed in terms of sample volume by dividing the obtained values by the ratio of the analyzed sample (3 g) and the final volume of the concentrated extract (2.00 mL) (Table 1).

PAH quantification was conducted by the external calibration method considering the regression line equations of each PAH. Concentrations were expressed in a dry weight basis and values below individual PAH LOQs were assigned as not quantified (NQ).

PAH recoveries were evaluated by analysis of SRM 1941b (NIST, USA). Recoveries varied between 83.9 and 105% except for fluoranthene that showed a recovery of 130%.

### 3) RESULTS AND DISCUSSION

TOC that varied between 0.8 and 7.8 % showing a discrete increase with depth indicating a transportation of organic matter and even oil from the leakage that occurred in 2002. TOC showed a poor not-significant correlation with  $\sum\text{PAHs}$  (0.40),  $\sum\text{CARC}$  (0.33) and TTEF (0.19) indicating that besides PAHs (and possibly residual oil) there are other sources of carbon to the studied area (Fontana *et al.* submitted).

The high concentrations of rich organic material in lipids (high hydrogen rate) result of the microbiological degradation mainly of the fitoplanctonic organic substance, in a desoxic-anoxic environment with high tax of preservation (7% TOC), indicate one high tax of preservation and low rate of free oxygen in the environment (Mendonça-Filho *et al* 2003)



As indicative of the condition of oxi-reduction of the compartment of deep, generally relation C/S is used. Its calculation is based on the quantitative analysis of organic carbon associated to the total sulphur data (Career 2000; Barcellos 2000).

Sulphur presented variations in all the cores, being the highest percentages determined in the inferior layers. The determined sulphur rate in the samples of sediments had oscillated between 0.01% (Core 2 in 10-15 cm) and 2.6% (Core 4 in 25-30 cm) (It appears), with  $1.1 \pm 0.7\%$  average of for all certifications (Figure 5).

The sulphur cycle in ecosystems directly is related the cycles of other main elements, as carbon, the oxygen, calcium and mainly regulates the behavior chemical of heavy metals. This element in the form of sulphide is predominant in the botton of marine environmental (Mahiques 1988). The joined sulphur concentrations in the showed compartments confirm the reducing regimen in the sediments. The mangroves accumulate much sediment for finding in deposition area where the waters lose the transport capacity and accumulate fine particles. These anoxics sediments must high level of consumption of oxygen during the decomposition of the organic matter for the bacterial activity that starts to use sulphate, whose reduction can be raising the concentration of sulphide. The variation determined in each core can be on the factors as the bioturbation and for the migration of the entrances of waters of the rivers and the Guanabara Bay.

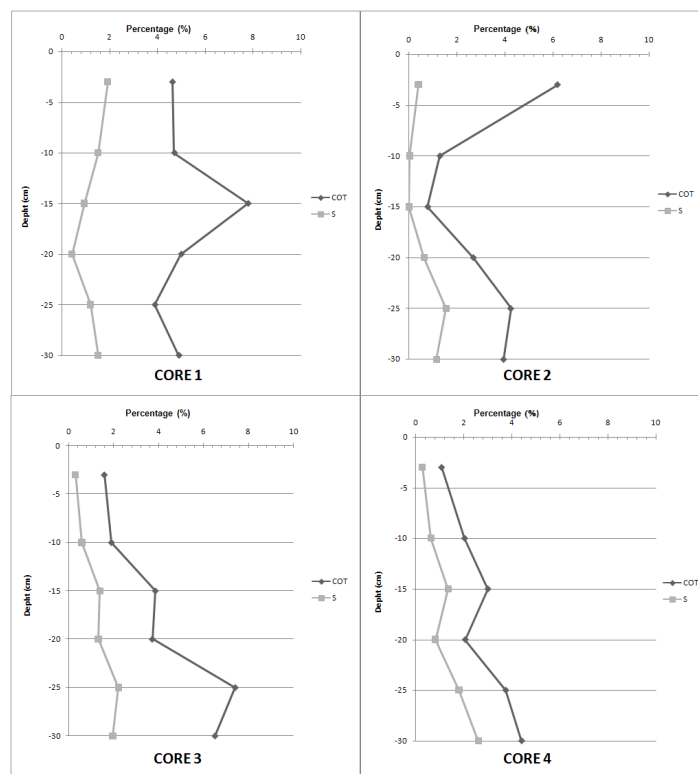


Figure 5 – Concentration for S and TOC in cores collected.

The deepest sediment layers of cores 3 and 4 showed the largest concentration of TOC suggesting some migration of oil and organic matter along the core together with wash of the superficial sediments. This fact would be also related with the predominance of coarse sediments in the mangrove (Fontana *et al.* submitted) and also to the bioturbation. The large permeability of the sediments can also allow some horizontal migration of water and organic matter (Fontana *et al.* submitted).

Analytical curves derived by least-square regression method showed excellent correlation coefficients showing the good relationship between fluorescence intensity and concentrations in the studied range. In order to express LOD and LOQ in  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the extracted sediment mass ( $\sim 3\text{g}$ ) and final volume of dilution were considered (2 mL). Adequate LOD, LOQ and correlation coefficients were obtained for all PAHs in the studied range (Table 1).

Table 1 - Detection limits ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) and quantification limits ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) of the studied PAHs in the analytical methodology.

PAHs	Detection Limits ( $\mu\text{g/g}^{-1}$ ) <sup>(a,b)</sup>	Quantification Limits ( $\mu\text{g/g}^{-1}$ ) <sup>(a,b)</sup>
Naphthalene	0.5	1.6
Acenaphthene	0.2	0.8
Fluorene	0.8	1.6
Phenanthrene	1.3	4.2
Anthracene	0.2	0.6
Fluoranthene	0.4	1.4
Pyrene	0.3	0.8
Benz[a]anthracene	1.3	4.2
Chrysene	0.4	1.3
Benzo[e]pyrene	0.3	1.0
Benzo[b]fluoranthene	1.9	6.2
Benzo[k]fluoranthene	0.3	0.9
Benzo[a]pyrene	0.5	1.8
Dibenz[a,h]anthracene	1.2	4.0
Benzo[g,h,i]perilene	0.2	0.8
Indene[1,2,3-c,d]pyrene	1.1	3.8

<sup>a</sup>See text for details for the calculation of Detection Limit and Quantification Limit <sup>b</sup> Considering the extraction of 3 g of sediment with a final concentration up to 2 mL.

Individual PAH levels varied widely between NQ and 706  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . Naphtalene, chrysene, benzo[b]fluoranthene and benzo[k]fluoranthene predominated in all samples. Some PAHs such as acenaphthene, benzo[e]pyrene, dibenz[ah]anthracene and indene[1,2,3-cd] were not detected in any sample. Table 2 shows the ranges of the studied PAHs according to sediment depths.

The concentrations of fluoranthrene, pyrene, benz[a]anthracene and benzo[a]pyrene were below their LOQs in core 2. Benzo[k]fluoranthrene accounted for 53% of total PAH concentration ( $\Sigma$ PAHs) in core 1, while naphthalene and benzo[a]pyrene contributed with around 20% of  $\Sigma$ PAHs in this core. Naphtalene accounted for 46% of total PAH concentration ( $\Sigma$ PAHs) in core 2, while chrysene and benzo[k]fluoranthrene accounted with 18% average. In the core 3 and 4 fluoranthene represented 47% and 34% of  $\Sigma$ PAHs respectively, while benzo[a]anthracene and benzo[a]pyrene contributed with an average of 21% of  $\Sigma$ PAHs (Table 2).

Table 2: Ranges of PAH concentrations ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) found in the different sampling depths.

PAHs	0-3	5-10	10-15	15-20	20-25	25-30
Naphthalene	NQ-330.4	NQ-115.8	4.0-81.5	NQ-24.5	NQ-94.96	NQ-36.59
Acenaphthene	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ-6.4	NQ
Fluorene	NQ	NQ-1.7	NQ-1.7	NQ	NQ-1.8	NQ
Phenanthrene	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Anthracene	NQ	NQ-1.4	NQ	NQ	NQ-1.6	NQ-2.7
Fluoranthene	NQ	NQ-14.1	NQ-28.3	NQ-21.7	NQ-48.4	NQ-306.2
Pyrene	NQ-49.7	NQ-5.3	NQ-9.5	NQ-6.0	NQ-19.4	NQ-28.8
Benz[a]anthracene	NQ-45.5	NQ-6.3	NQ-14.1	NQ	NQ-146.1	NQ-8.1
Chrysene	NQ-14.9	NQ-7.4	NQ-12.0	NQ-10.8	NQ-6.7	NQ-5.6
Benzo[e]pyrene	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Benzo[b]fluoranthene	NQ-34.8	NQ-11.2	NQ-16.5	NQ-22.9	6.2-16.5	NQ-22.8
Benzo[k]fluoranthene	NQ-446.4	3.2-329.8	NQ-298.2	NQ-706.3	NQ-27.3	NQ-25.3
Benzo[a]pyrene	NQ-466.1	NQ-37.3	NQ-34.0	NQ-37.6	NQ-29.2	NQ-19.2
Dibenz[a]anthracene	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
Benzo[ghi]perylene	NQ-2.6	NQ-2.6	NQ-2.6	NQ-2.6	NQ-2.6	NQ-2.6
INQene[1,2,3-cd]pyrene	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ

<sup>a</sup>See text for details for the calculation of Limit of Detections and Limits of Quantification

Naphthalene showed large concentrations in the superficial sediment of core 1 ( $330 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) and in many other layers of this core. Two facts may account for these levels of naphthalene. The accumulation of this PAH due to less drainage of this area and an input of terrestrial origin of anthropic origin or of biological origin as previously shown in tropical areas for naphthalene, phenanthrene and perylene (Wilcke *et al.* 2003, 2005).

Total PAH concentrations ( $\Sigma\text{PAHs}$ ) in the cores varied between  $4.3$  to  $1387 \mu\text{g.g}^{-1}$  (Figure 3). Samples of core 1 showed the largest  $\Sigma\text{PAHs}$  ( $131.8$  to  $1387 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) mainly in the superficial layers followed by those of core 3 ( $14.7$  to  $384.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Core 4 samples ( $33.3$  to  $75.5 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) and core 2 samples ( $4.3$  to  $28.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) showed the lowest  $\Sigma\text{PAHs}$ . All cores showed different profiles of  $\Sigma\text{PAHs}$  along depth.

$\Sigma\text{PAHs}$  also varied vertically in the cores and along the studied transect. The top layer of core 1 showed the largest  $\Sigma\text{PAHs}$  ( $1387 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) (Figure 3). Since this is the most distant sampling point of Guanabara Bay, this fact may be attributed to a low sediment wash and drainage of this layer when compared with the bottom layer of core 4 that showed the lowest  $\Sigma\text{PAHs}$ . This insufficient wash would lead to PAH accumulation that is also favored by the plane topography of Suruí Mangrove that allows the occurrence of areas of deposition in the most distant parts of the sea.

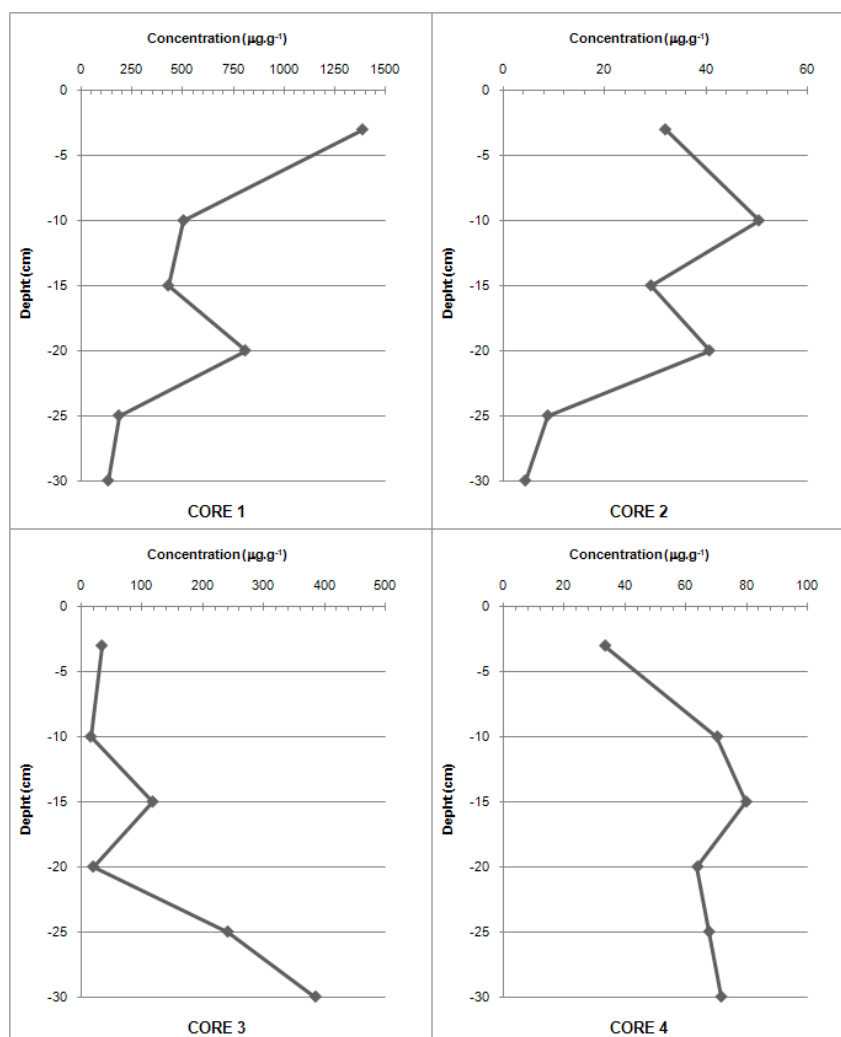


Figure 3 – Concentration for  $\Sigma$ HPAs in cores collected.

Total carcinogenic PAH levels ( $\Sigma$ CARC), here considered as the sum of those classified by IARC as carcinogenic to humans (1), as probable human carcinogens (2A) and as possible human carcinogens (2B) (namely benzo[a]pyrene, benz[a]anthracene, dibenzo[a,h]anthracene, naphthalene, benzo[b]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene and indene[1,2,3-c,d]pyrene) (IARC 2006) contributed with 12 to 100 % of  $\Sigma$ PAHs, with a mean value of 70 % (Figure 4). Core 1 showed the largest percentages of carcinogenic PAHs.

Toxic equivalent factors (TEF) that compare the individual carcinogenic potency of individual PAHs with that of benzo[a]pyrene (IPCS 1998; Nisbet and LaGoy 1992) were also used for sample comparison. Individual PAH concentrations were multiplied by their TEF and the results were summed leading to total toxic equivalent factors (TTEF) of

sample (Table 2). This approach was successfully applied in the study of PAHs associated with, for example, TSP (total suspended particulate) (Castellano *et al.* 2003) and tree bark (Pereira Netto *et al.* 2007). TTEF values ranged between 0.2 and 519.3  $\mu\text{g}$  of benzo[a]pyrene equivalent/g of sample. The largest values of TTEF were found in core 1 in a similar way of  $\Sigma\text{PAHs}$  and  $\Sigma\text{CARC}$ .  $\Sigma\text{PAHs}$  was significantly correlated with  $\Sigma\text{CARC}$  (0.98) and with TTEF (0.91). These parameters were also significantly correlated (0.92).

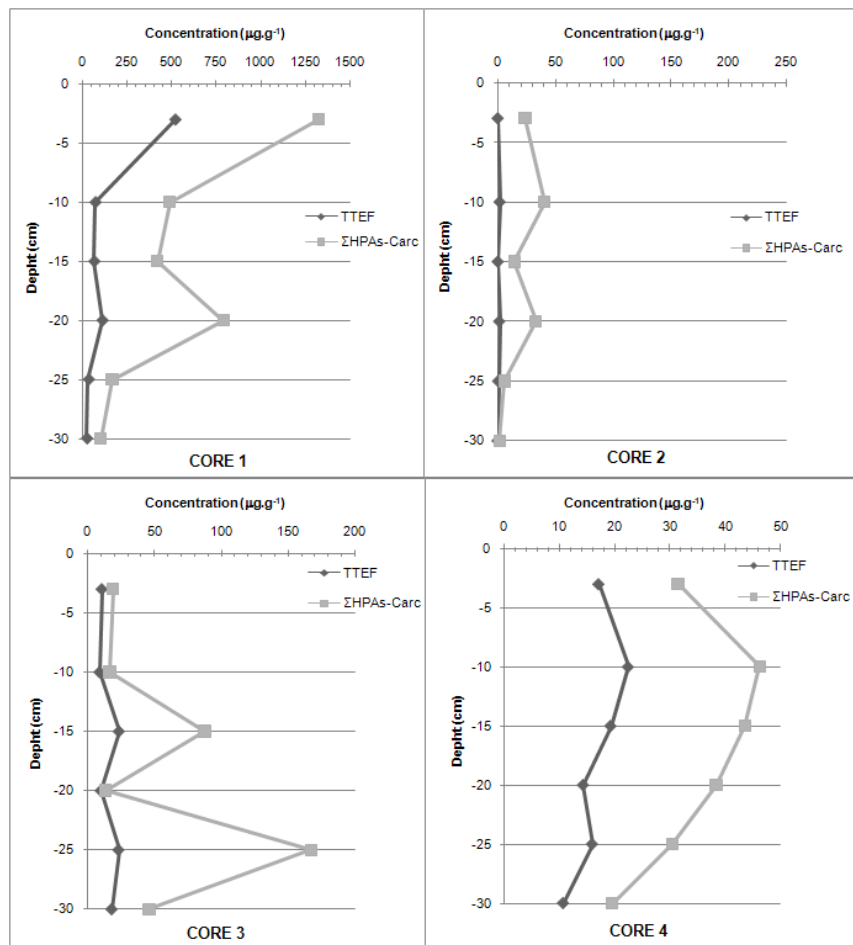


Figure 4 – Concentration for TTEF and  $\Sigma\text{HPAs-Carc}$  in cores collected.

#### 4) CONCLUSIONS

The data from Suruí mangrove shows evidences of PAH contamination even in superficial and sub-superficial sediments. Core 1 that is the most distant from seashore showed the largest values of total PAHs, carcinogenic PAHs and TTEF. The superficial

sediment of this core was shown to be the most contaminated, one of possibility to this is due to organic matter accumulation and less runoff. The other cores showed lower concentrations of PAHs. Core 4 showed an almost constant total concentration of PAHs due possibly to sediment mixing since it is near seashore.

Core 1 that is located in bottom of Suruí Mangrove is possibly an area of backwater where an important deposition of suspended solids in the superficial sediment layers can occur, carried by the tide and rivers. Core 2 is located in a intermediate area where a large sediment wash occurs leading to less sediment deposition. Core 3 is located near the mangrove edge is affected by way in any way out of tide thus leading to superficial layers wash but with an important contamination of the deepest sediments. Core 4 is strongly affected by the water entrance from Guanabara Bay and although the sediments are frequently washed the mixing of sediment layers can lead to a similar and continuous contamination impact in these layers.

The organic matter in largest concentrations, characterizing the anoxic environmental, it favors the attachment of organic substances, and the way in tide owing to plane topographic (Fontana *et al.* submitted) caused benefit in the distribution of the organic composites for mangrove, thus facilitating the incorporation in the superficial sediments.

With respect to environmental assessment, the contamination by PAHs may represent a risk to local fauna and even to human beings since in many samples important percentages of carcinogenic PAHs were found in the studied sediments. The relatively high content of organic matter and its high quality (Fontana *et al.* submitted) may lead to not favorable conditions of remediation or bioremediation of the studied area.

Our data are not conclusive in the role of the oil leakage to the evaluation of PAH levels in that area since part of them may have other sources than that oil. Moreover we did not investigate other markers such as cyclic hydrocarbons or alkylated PAHs.

#### ACKNOWLEDGMENTS

To ANP, CNPq, CAPES, FAPERJ for financial support and projects. To the laboratories and groups (LAQFAFA, MICROMAR and LAGEMAR) for technical support.

## REFERENCES

- A.D. Pereira Netto, F.C. Muniz, E.C.P.R. Laurentino. Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in street dust of Niterói City, RJ, Brazil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 68 (2002) 831-838.
- A.D. Pereira Netto, I.F. Cunha, F.C. Muniz, E.C.P. Rego. Polycyclic aromatic hydrocarbons in street dust of Niterói City, RJ, Brazil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72 (2004b) 829-835.
- A.D. Pereira Netto, I.F. Cunha, T.M. Krauss, Persistence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Soil of a Burned Area for Agricultural Purposes in Brazil *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (2004a) 73:1072–1077
- A.D. Pereira Netto, J.C. Moreira, A.E.X.O. Dias, G. Arbilla, L.F.V. Ferreira, A.S.Oliveira, J. Barek. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. *Química Nova* 23 (2000) 765–773
- A.D. Pereira Netto, R.P. Barreto, J.C. Moreira, G. Arbilla. Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Terminalia catappa* L. (Combretaceae) bark from a selected heavy road traffic area of Rio de Janeiro City, Brazil. *J. Haz. Mat.* 142 (2007) 389–396.
- A.D. Pereira Netto, T.M. Krauss, I.F. Cunha, E.C.P. Rego. Polycyclic aromatic hydrocarbons levels in street dust in the Central Area of Niterói City, RJ, Brazil. *Water Air Soil Pollut.* 176 (2006) 57-67.
- A.V. Castellano, J.L. Cancio, P.S. Aleman, P.S. Rodriguez. Polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air particles in the city of Las Palmas de Gran Canaria, *Environ. Int.* 29 (2003) 475–480.
- C. Nisbet, P. LaGoy. Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), *Regul. Toxicol. Pharm.* 16 (1992) 290–300.
- C.D. Getter, G. Cintron, B. Dicks, R.R. Lewis III, E.D. Seneca. The recovery and restoration of salt marshes and mangrove following an oil spill. In: Cairns Jr J, Buikema Jr AL, editors. *Restoration of Habitats Impacted by Oil Spills*. Boston7 Butterworth Publishers. (1984) 65 – 114.



- C.D. Getter, T.G. Ballou, C.B. Koons. Effects of dispersed oil on mangroves: synthesis of a seven year study. *Mar. Poll. Bull.* 16 (1985) 318–324.
- C.O. Farias, C. Hamacher, A.L.R. Wagener, A.L. Scofield. Origin and degradation of hydrocarbons in mangrove sediments contaminated by oil spill (Rio de Janeiro, Brazil). *Organic Geochemistry*, 39 (2008) 289-307.
- D.M. Brum and A.D. Pereira Netto, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Tripuí River, Ouro Preto, MG, Brazil, *J. Haz. Mat.*, 2009, In press
- G.J. Zheng, B.K.M. Man, J.C.W. Lam, M.H.W. Lam, P.K.S.Lam. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediment of a sub-tropical coastal wetland. *Water Res* 36 (2002) 1457–68.
- G.J. Zheng, M.H.W. Lam, P.K.S Lam, B.J. Richardson, B.K.W. Man, A.M.Y Li. Concentrations of persistent organic pollutants in surfacosediments of the mudflat and mangroves at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong. *Mar Pollut Bull.* 40 (2000) 1210–4.
- IARC – International Agency for Research on Cancer, 2006. (<http://www.iarc.fr/>).
- IPCS – International Programme on Chemical Safety (1998) Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons, WorldHealth Organization,
- J. Michel. Assessment and Recommendations for the Oil Spill Cleanup of Guanabara Bay, Brazil. *Spill Science & Technology Bulletin*, 6 (2000) 89-96.
- J. G. Mendonça Filho; T. R. Menezes; E. A. de Oliveira & M.e B. Iemma. Caracterização da Contaminação por Petróleo e seus Derivados na Baía de Guanabara: Aplicação de Técnicas Organogeoquímicas e Organopetrográficas. *Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ*. Vol. 26 (2003) 69-78.
- K. Furukawa, E. Wolanski, H. Mueller. Currents and Sediment Transport in Mangrove Forests. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44 (1997) 301-310.
- L. Ke, K.S.H. Yu, Y.S. Wong, N.F.Y. Tam. Spatial and vertical distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments *Science of The Total Environment*, 340 (2002) 177-187
- L.F. Fontana, F.S. Da Silva, N.G. Figueiredo, D.M. Brum, A.D. Pereira Netto, A.G. Figueiredo Jr, M.A.C. Crapez. **Submitted**. Superficial distribution of aromatic

- substances and geomicrobiology of sediments from Suruí Mangrove, Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (online).
- M. Krauss, W. Wilcke, C. Martius, A.G. Bandeira, M.V.B. Garcia, W. Amelung. Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest environment. *Environ. Pollut.* 135 (2005) 143–154.
- M.L.G. Soares, C.M.G. Silva Jr, V.F. Cavalcanti, P.M.M. Almeida, A.S. Monteiro, F.O. Chaves, G.C.D. Estrada, B. Barbosa. Regeneração de floresta de mangue atingida por óleo na Baía de Guanabara (Rio de Janeiro, Brasil): Resultados de 5 anos de monitoramento. *Geochem Bras* 20 (2006) 54-77.
- M.L.G. Soares, F.O. Chaves, F.M. Côrrea, C.M.G. Silva Junior. Diversidade Estrutural de Bosques de Mangue e sua Relação com Distúrbios de Origem Antrópica: O Caso da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro). *Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ*, 26 (2003) 101-116.
- M.M. Mahiques. Caracterização da matéria orgânica sedimentar da plataforma continental interna e média entre a Baía da Guanabara (RJ) e São Francisco do Sul (SC). Tese de Livre-Docência, Instituto Oceanográfico, USP, 86 p., 1998.
- N.F.Y. Tam, Y.S. Wong. Mangrove soils in removing pollutants from municipal wastewater of different salinities. *J Environ Qual.* 28 (1999) 556–64.
- N.F.Y. Tam, Y.S. Wong. Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. *Environ Pollut.* 110 (2000) 195– 205.
- R.L. Barcellos. Processo sedimentar atual e a distribuição da matéria orgânica sedimentar (C, N e S) do Canal de São Sebastião (SP) e plataforma continental adjacente. Dissertação de Mestrado, Instituto Oceanográfico da USP, 187 p., São Paulo, 2000.
- R.S. Carreira, A.L.R. Wagener, J.W. Readman. Distribuição de coprostanol (5 $\beta$ (h)-colestano-3 $\beta$ -ol) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: indicador da poluição recente por esgotos domésticos. *Quim. Nova*, 24 (2001) 37-42.
- R.S. Carreira, A.L.R. Wagener, J.W. Readman. Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space time variations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 60 (2004) 587-598.

- R.S. Carreira, A.L.R. Wagener. Caracterização da matéria orgânica sedimentar na Baía de Guanabara através de marcadores moleculares. Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ. 26 (2003) 79-91.
- R.S. Carreira. Investigação sobre o acréscimo da estocagem de carbono em ambientes fertilizados pela ação antropogênica: a Baía de Guanabara como modelo. Tese de Doutorado, PUC-Rio, Rio de Janeiro, 200 p., 2000.
- W. Wilcke, M. Krauss, J. Lilienfein, W. Amelung. Polycyclic aromatic hydrocarbon storage in a typical Cerrado of the Brazilian Savanna. J. Environ. Qual. 33 (2005) 946–955.
- W. Wilcke, W. Amelung, M. Krauss, C. Martius, A. Bandeira, M. Garcia. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) patterns in climatically different ecological zones of Brazil. Org. Geochem. 34 (2003) 1405–1417.

## 8. CONCLUSÃO

A topografia do Manguezal de Suruí favorece a entrada das águas da baía, as quais rompem as *chernies* e espalham as frações de areia por todo o mangue, tendo as áreas centrais e atrás do mangue como áreas deposicionais.

O tamanho dos grãos é um fator importante na atenuação natural dos hidrocarbonetos. Entretanto, o alto conteúdo matéria orgânica, mesmo em amostras com distribuição homogênea de areia/silte/argila facilitam a manutenção de compostos aromáticos em conjunto com os biopolímeros tais como carboidratos e proteínas.

Manguezais são importantes na manutenção da linha de costa e berçários de várias espécies sendo altamente vulneráveis ao impacto por óleo. Compostos aromáticos no Manguezal de Suruí não são levados pela maré, o que facilitaria a atenuação natural, mas o alto teor de matéria orgânica, junto a topografia plana e a disposição da vegetação favorecem o seqüestro destas substâncias.

Comparados a padrões globais a distribuição dos hidrocarbonetos de petróleo no Manguezal de Suruí podem ser classificadas como moderadas a alta, constituindo uma área altamente impactada por incidentes contínuos e por descargas industriais e transportes na Baía de Guanabara.

O ambiente anóxico caracterizado pelas altas concentrações de matéria orgânica indicam uma maior presença de bactérias anaeróbicas viáveis distribuídas verticalmente e horizontalmente pelos sedimentos, confirmados pelas altas concentrações do carbono bacteriano. Neste caminho, a diagênese da matéria orgânica ocorre através dos sedimentos onde uma expressiva biomassa bacteriana anaeróbica habita, e as enzimas esterases investem em compostos orgânicos altamente complexos, preferindo os biopolímeros, os quais se apresentaram em altas concentrações e são menos complexos que os hidrocarbonetos de petróleo.

O fluxo de maré devido a topografia plana favorece uma maior distribuição de compostos orgânicos sobre o manguezal, facilitando assim a incorporação nos sedimentos superficiais e estabilizando as bactérias aeróbicas as quais contribuem na diagenese do carbono, nitrogênio e nutrientes transformando em produtos que mantêm bactérias anaeróbicas facultativas, desnitrificantes e sulfato-redutoras.

Os testemunhos demonstram que o Manguezal de Suruí possui uma região de deposição ao fundo do mangue do material particulado estabilizado pela calmaria da maré pela topografia plana e raízes das plantas.

Dois locais de lavagem dos sedimentos são dispostos próximos e ao centro do mangue onde se obtêm uma menor deposição do material particulado. Na

área mais ao centro é possível determinar altas concentrações de biopolímeros.

Na área a frente do manguezal onde há maior fluxo de maré e assim onde se tem uma maior retrabalhamento dos sedimentos, foi determinado sedimentos impactados igualmente, o que confirma um possível impacto contínuo do manguezal.

O Manguezal de Suruí demonstra altas concentrações de biopolímeros de fácil degradação, os quais se tornam um empecilho ao desenvolvimento das comunidades bacterianas presentes, que são responsáveis pelas transformações nos ciclos biogeoquímicos e degradação dos compostos aromáticos.

A diagênese da matéria orgânica ocorre ao longo dos testemunhos onde as comunidades bacterianas governam os processos através da atividade das enzimas esterases, com a degradação dos biopolímeros.

As concentrações dos biopolímeros são similares aos encontrados no Hemisfério Norte e Baía de Guanabara. Entretanto as concentrações do carbono biopolimérico foram 1000 vezes menores, indicando a necessidade de se estabelecer novos índices recomendando níveis tróficos presentes em sistemas costeiros tropicais.

## 9. REFERÊNCIAS

- Abessa, D.M.S.; Sousa, E.C.P.M.; Rachid, B.R.F. & Mastroti, R.R. 2001. Sediment toxicity in Santos estuary, SP-Brazil: preliminary results. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, 4(1): 6-9.
- Achmadi S, Syahbirin G, Choong E T and Hemingway R W. 1994. Catechin-3-O-rhamnoside chain extender units in polymeric procyanidins from mangrove bark. *Phytochemistry (Elsevier)* 35: 217-219.
- ADEME 1997. Methode de quantification de la consommation et des polluants émis par la circulation routière. Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME), Direction des Transports.
- Alef K. & Nannipieri P. 1995. Enrichment, isolation and counting of soil microorganism. In: *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic press, 123-186.
- Alloway B J. 1990. The origins of heavy metals in soils. In: ALLOWAY, B. J. (Ed) *Heavy metals in soils*. New York: John Wiley 29-39 p.
- Alves, P.H. 1998. Avaliação da importância do tempo de estocagem e do glicerol, na preservação de biomarcadores, em amostras de sedimento marinho. Monografia especialização Biologia Marinha, pp 1-42.
- Amador E S. 1980. Assoreamento da Baía de Guanabara – taxas de sedimentação. *An Acad Bras Cienc.* 52: 723-742.
- Angerer, J., Mannschreck, C. & Gundel, J. 1997. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in a graphite-electrode producing plant: Biological monitoring of 1-hydroxypyrene and monohydroxylated metabolites of phenanthrene. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 69, 323-331.

- Anthony E J. 2004. Sediment dynamics and morphological stability of an estuarine mangrove complex: Sherbro Bay, West Africa. *Mar Geol* 208: 207–224.
- Apitz, S. E.; Arias, E.; Sheri A. C.; Lin, E. W.; Melcher, R. J.; Hemmingsen, B. B. 1999. Aged Marine Sediment for Biodegradation Experiments: Chemical Results. *Organic Geochemistry*. n.30, p.891-900.
- Araújo S.I., Silva G.H., Muehe, D. 2000. Manual básico para elaboração de mapas de sensibilidade ambiental a derrames de óleo no sistema Petrobrás: Ambientes Costeiros e Estuarinos. Rio de Janeiro: Iarte. 170 p.
- ATSDR, 2006 Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Department of Health and Human Services. Asbestos toxicity: Physiologic effects [on line]. Available from URL: [http://www.atsdr.cdc.gov/HEC/CSEM/asbestos/physiologic\\_effects.html](http://www.atsdr.cdc.gov/HEC/CSEM/asbestos/physiologic_effects.html) [Assessed 2006 April 5].
- Baird, C. 2002. Química Ambiental. Ed. Bookman. São Paulo-SP. p. 662.
- Baptista Neto J A, Smith B J and Mcallister J J. 2000. Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, S.E. Brazil. *Environ Pollut (Elsevier)* 109: 1-9.
- Bengtsson G. & Zerhouni P. 2003. Effects of carbon substrate enrichment and DOC concentration on biodegradation of PAHs in soil *Journal of Applied Microbiology*, 94:608-617.
- Benlahcen K. T., Chaoui A., Budzinski H., Bellocq J. and Garrigues P.H. 1997. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in some Mediterranean coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin* 34:298-305



- Bernanrd D.; Pascaline H.; Jeremie J. J. 1996. Distribution and origin of hydrocarbon in sediments from lagoons with fringing mangrove communities. *Marine Pollution Bulletin* 32 (10) 734 – 739.
- Bligh E. G. & Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry Physiology*. n.37, p.911-917, 1959.
- Boxall A B A and Maltby L. 1997. The effects of motorway runoff on freshwater ecosystems: 3. Toxicant confirmation. *Arch Environ Contam Toxicol* 33: 9-16.
- Buikema A L, Niederlehner B R and Cairns Jr. 1981. The effects of a simulated refinery effluent and its components on the estuarine Crustacean, *Mysidopsis bahia*. *Arch Environ Contam Toxicol* 10: 231–240.
- Burns, K.A; Garrity, S.D.; Jorissen, D.; MacPherson, J.; Stoelting, M.; Tierney, J.; Yelle – Simmons, L. 1994a – The Galeta oil spill. II. Unexpected persistence of oil trapped in mangrove sediments – *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 38:349 – 364.
- Burns, K.A; Codi, S.; Pratt, C.; Duke, N.C. 1994b – Weathering of hydrocarbons in mangrove sediments: testing the effects of using dispersants to treat oil spills. *Organic Geochemistry*, 30:1273 – 1286.
- Burns, K.A & Yelle-Simmons, L. (1994) – The Galeta oil spill. IV. Relationship between sediments and organism hydrocarbon loads – *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 38:397 – 412.
- Burns, K.A; Codi, S.; Duke, N.C. (2000) – Gladstone, Australia field studies: Weathering and degradation of hydrocarbons in oiled mangrove and salt marsh sediments with and without the application of an experimental bioremediation protocol. *Marine Pollution Bulletin*, 41:392 – 402.

- Bunn, R. A., R. D. Magelky, J. N. Ryan, and M. Elimelech. 2002. Mobilization of natural colloids from an iron oxide-coated sand aquifer: effect of pH and ionic strength. *Environ. Sci. Technol.* 36:314-322.
- Byers S, Mills E and Stewart P. 1978. Comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiol* 58: 43-47.
- Caricchia, A. M., Chiavarini S., Cremisini C., Morabito R., Perini A. and Pezza M. 1995. Determination of PAH in atmospheric particulates in the area of the Italian base in Antarctica: Report on monitoring activities during the last three scientific expeditions. *Environmental Pollution*, v. 87, p. 345.
- Carlucci A F, Craven D B, Robertson D J, Williams P M. 1986. Surface-film microbial populations diel amino acid metabolism, carbon utilization and growth rates. *Mar Biol* 92: 289-297.
- Carmo, T.M.S. do; Melo, R.M.S; Oliveira, A.R. de; Akahori, L; Almeida, R. de; Lovat, T.J.C. 1994. *Conhecendo o manguezal: material didático*. Vitória: Editora Fundação Ceciliano de Almeida, p. 25.
- Carreira R, Wagener A L R, Fileman T and Readman J. 2001. Distribuição de coprostanol (5 $\beta$ (H)-COLESTAN-3 $\beta$ -OL) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: indicador da poluição recente por esgotos domésticos. *Quím Nova* 24: 37-42.
- Chapman, P. M. 1989. Review: current approaches to developing sediment quality criteria. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:589-599.

- Cintron, G. & Schaeffer-Novelli, Y. 1992. Ecology and management of New World mangroves. In: The mangrove ecosystem: research methods. Eds. U. Seeliges. Academic Press, Califórnia. 233-258p.
- Cohen M, Filho P, Lara R, Behling H and Angulo R. 2005. A model of Holocene mangrove development and relative sea-level changes on the Bragança Peninsula (Northern Brazil). *Wetl Ecol and Manag* 13: 433–443.
- Connell, D. W.; Wu, R. S. S.; Richardson, B. J.; Leung, K.; P. S. K.; Connell, P. A. 1998 Occurrence of Persistent Organic Contaminants and Related Substances in Hong Kong Marine Areas: an Overview. *Marine Pollution Bulletin*. 36:376-384.
- Costa, A. F. de. Avaliação da contaminação Humana por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos : 1-hidroxipireno–urinário. 2001. Dissertação de Mestrado-Centro de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2001.
- Crapez M A C, Baptista Neto J A and Bispo M G S. 2003. Bacterial Enzymatic Activity and Bioavailability of Heavy Metals in Sediments From Boa Viagem Beach (Guanabara Bay). *An Inst Geoc (UFRJ)* 26 :60-68.
- Crapez M A C, Cavalcante A C, Bispo M G S, Alves P H. 2001. Distribuição e atividade enzimática de bactérias nos limites inferior e superior entre-marés na Praia de Boa Viagem, Niterói, R.J., Brasil. Efeito de poluentes em organismos marinhos, Moraes, R. et al. (Eds) São Paulo, Arte e Ciência, Villipress, p. 129-138.
- Da Silva F S, Laut V M, Laut L L M, Figueiredo Jr A G, Bonetti C, Viana L G and Crapez M A C. 2005. Avaliação da qualidade ambiental em sedimentos superficiais do estuário de Itacorubi - Baía Norte (SC), utilizando a relação granulometria e atividade

- respiratória bacteriana. Proceedings X Congresso da ABEQUA, 2005, Guarapari-ES, CD-ROM.
- Day M J, Reinke R F and Thomson J A M. 2001. Fate and transport of fuel components below slightly leaking underground storage tanks. *Environ Forensics* 2: 21–28.
- Dell'Anno A, Mei M L, Pusceddu A and Danovaro R. 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal biochemical composition of sediment organic matter. *Mar Pollut Bull* 44: 611-622.
- Dell'Anno, A., Fabiano, M., Mei, M.L., Danovaro, R., 2000. Enzymatically hydrolysed protein and carbohydrate pools in deep-sea sediments: estimates of the potentially bioavailable fraction and methodological considerations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 196, 15-23.
- Díaz M P, Grigson S J W, Pepita C J and Burgess J G. 2000. Isolation and characterization of novel hydrocarbon-degrading euryhaline consortia from crude oil and mangrove sediments. *Mar Biotechnol* 2: 522-532.
- Didyk, B.M.; Simoneit, B.R.T.; Pezoa, L.A.; Riveros, M.L.; Flores, A.A. 2000. Urban Aerosol Particles of Santiago, Chile: Organic Content and Molecular Characterization. *Atmospheric Environment*. n.34, p.1167–1179.
- Diegues A. C. S. 2001. *Ecologia Humana e planejamento em áreas costeiras*. 2 ed. São Paulo: USP, Núcleo de Apoio à pesquisa sobre populações humanas em Áreas Úmidas Brasileiras, 225 p.

- Ding YS, Trommel JS, Yan XJ, Ashley D & Watson C H. 2005 Determination of 14 polycyclic aromatic hydrocarbons in mainstream smoke from domestic cigarettes. *Environmental Science & Technology*, 39:471-478.
- Dubois M, Gilles K, Hamilton J K, Rebers P A and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt Chem* 28: 350–356.
- Dansereau, P., 1948 Zonation et sucession, sur la restinga de Rio de Janeiro. I- la holosére. *Rev. Canad. Biol.*, 6:448-477.
- Edwards K J, Bach W and McCollom T M. 2005. Geomicrobiology in oceanography: microbe-mineral interactions at and below the seafloor. *Trends Microbiol* 13: 449-456.
- Edwards, N.T. 1983. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the Terrestrial Environment–A Review. *J. Environ. Qual.* 12:427-441.
- Egler C A G, Cruz C B M, Madsen P F H, Costa S de M and Silva E A. 2003. Proposta de zoneamento ambiental da Baía de Guanabara. *An Inst Geoc (UFRJ)* 26: 127-138.
- Eiroa A. A., Blanco E. V., Mahía P. L., Lorenzo S. M., Rodríguez D. P. and Fernández E. F.. 2000. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a complex mixture by second-derivative constant-energy synchronous spectrofluorimetry. *Talanta*, 51:677-684.
- Ellison J C. 1998. Impacts of sediment burial on mangroves. *Mar Pollut Bull* 37: 420–426.
- Fabiano M and Pusceddu A. 1998. Total and hydrolizable particulate organic matter (carbohydrates, proteins and lipids) at a coastal station in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Polar Biol* 19: 125–132.

- Fabiano M, Danovaro R and Frascchetti S. 1995. A three-year time series of elemental and biochemical composition of organic matter in subtidal sediments of the Ligurian Sea (northwestern Mediterranean). *Cont Shelf Res* 15: 1453–1469.
- Farias C.O., Hamacher C., Wagener A.L.R., Scofield A.L. 2008. Origin and degradation of hydrocarbons in mangrove sediments contaminated by oil spill (Rio de Janeiro, Brazil). *Organic Geochemistry*, 39:289-307.
- Fasnacht, M. P. & Blough, N. V. 2003. Mechanisms of the aqueous photodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environment Science Technology*, 37:5767-5772.
- Fenchel T, King G M, Blackburn T H. 1988. *Bacterial biochemistry: the ecophysiology of mineral cycling*. 2nd ed. Academic Press 307 p.
- Fenchel, T. 1969. The ecology of marine microbenthos. *Ophelia* 6:1.
- Fernandez M. B.; Sicre, M. A.; Boireau, A. & Tronczynsky, J. 1997. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) Distributions in the Seine River and its Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 34:857-867.
- Finlayson-Pitts, B. J. & Pitts JR, J. N. 1997. Tropospheric Air Pollution: Ozone, Airborne Toxics, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, and Particles. *Science*, 276:1045-1052.
- Flemming B K. 2000. A revised textural classification of gravel-free muddy sediments on the basis of ternary diagrams. *Cont Shelf Res* 20: 1125-1137.
- Folk R L. 1968. *Petrology of sedimentary rocks*. Hemphill's, Austin. 170 p.
- Fontana L F, Da Silva F S, Krepsky N, Barcelos M A and Crapez M A C. 2006. Natural attenuation of aromatic hydrocarbon from sandier sediment in Boa Viagem beach, Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Geochem Bras* 20: 78-86.

- Formenton-Catai A. P.; Machado R. P.; Lancas F. M. and Carrilho E. 2005. Solid-Phase Purification of Deoxyguanosine-benzo[a]pyrene Diol Epoxide Adducts from Genomic DNA Adduct Synthesis. *Journal Brazilian Chemical Society*, 16:808-814
- Furukawa K, Wolanski E and Mueller H. 1997. Currents and sediment transport in mangrove forests. *Estuar Coast Shelf S* 44: 301-310.
- Gabardo I T, Meniconi M F G, Falcão LV, Vital N A A, Pereira R C L, Carreira R S. 2001. Hydrocarbon and ecotoxicity in seawater and sediment samples of Guanabara Bay after the oil spill in January 2000. *Proceedings 2001 International Oil Spill Conference*, American Petroleum Institute Publ 941-950 pp.
- Galeron J, Sibuet M, Venreusel A, Mackenzie K, Gooday AJ, Wolff G. 2001. Are temporal patterns among meiofaunal and macrofaunal taxa (quantitative distribution) at an abyssal N-E Atlantic. *Progress In Oceanography*, 50:303-324.
- Garrity, S.D.; Levings, S.C.; Burns, K.A. (1994) – The Galeta oil spill. I. Long-term effects on the physical structure of the mangrove fringe – *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 38:327-348.
- Gary, M., R. McAfee, Jr., and C. L. Wolf (eds.). 1974. *Glossary of geology*. Washington, DC: American Geological Institute.
- Gerchacov S M and P G Hatcher. 1972. Improved technique for analysis of carbohydrates in sediment. *Limnol Oceanogr* 17: 938–943.
- GESAMP 1993. Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment. Rep. Stud. GESAMP 50-180 pp.
- Hartree E F. 1972. Determination of proteins: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem* 48: 422–427.

Houri-Davignon C and Relexans J-C. 1989. Measurement of actual electron transport system (ETS) Activity in marine sediments by incubation with INT. Environ Technol Lett 10: 91-100

IARC – International Agency for Research on Cancer 2007. Complete list of agents, mixtures and exposures evaluated and their classification.

IARC. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs. Volumes 1 to 42. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, supplement 7., 1987.

IPCS – International Programme on Chemical Safety 1996. Diesel fuel and exhaust emissions. World Health Organization, Geneva.

IPCS – International Programme on Chemical Safety 1997. Xylenes, World Health Organization, Geneva.

IPCS – International Programme on Chemical Safety 1998 Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons, World Health Organization, Geneva.

Joseph, Maureen. HPLC detector options for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons. Varian Application Note, n.7.

Juhasz A. L. and Naidu R. 2000 Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene International Biodeterioration & Biodegradation, 45:57-88.

Kannan K, Johnson-Restrepo B, Yohn S S, Giesy J P and Long D T. 2005. Spatial and temporal distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Michigan Inland Lakes. Environ Sci Technol 39: 4700-4706.



- Kathiresan K. and Ravi A Y. 1990. Seasonal changes in tannin content of mangrove leaves. *Indian Forester* 116: 390-392.
- Ke L., Yu K.S.H., Wong Y.S., Tam N.F.Y. 2002. Spatial and vertical distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments *Science of The Total Environment*, 340:177-187
- Kehrig H A, Pinto F N, Moreira I and Malm O. 2003. Heavy metals and methylmercury in a tropical coastal estuary and a mangrove in Brazil. *Org Geochem* 34: 661-669.
- Kennish M J. 1997. *Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution*. Boca Raton, Florida. CRC Press Inc 524 p.
- Kepner Jr, Pratt J R. 1994. Use of fluorochromes for direct enumerations of total bacteria in environmental samples: past and present. *Microbiol Rev* 58: 603-615
- Khalili N. R.; Scheff P. A. & Holsen T. M. 1995. PAH source fingerprints for coke ovens, diesel and gasoline engines, highway tunnels, and wood combustion emissions. *Atmospheric Environmental*, 29:533-542.
- Kim, S. K., D. S. Lee, and J. R. Oh. 2002. Characteristics of trophic transfer of polychlorinated biphenyls in marine organisms in Incheon North Harbor, Korea. *Environ. Sci. Technol.* 21:834-841.
- Kim G B, Maruya K A, Lee R F, Lee J H, Koh C H and Tanabe S. 1999. Distribution and sources of PAHs in Kyeonggi Bay, Korea. *Mar Pollut Bull* 38: 7-15.
- Kitaya Y, Jintana V, Piriyaoytha S, Jaijing D, Yabuki K, Izutani S, Nishimiya A and Iwasaki M. 2002. Early growth of seven mangrove species planted at different elevations in a Thai estuary. *Trees-Struct Funct* 16: 150–154.

- Kjerfve B, Ribeiro C, Dias G, Filippo A and Quaresma V. 1997. Oceanographic characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil. *Cont Shelf Res* 17: 1609-1643.
- Kubicki J D and Aritz S E. 1999. Models of natural organic matter and interactions with organic contaminants. *Org Geochem* 30: 911-927.
- Kueh C S W and Lam J Y C. 2008. Monitoring of toxic substances in the Hong Kong marine environment. *Mar Pollut Bull* 57: 744–757
- Lacerda L.D. 1984. Manguezais florestas de beira-mar. *Ciência Hoje*. v.3 n°13.
- Lacerda L.D. 1998. Biogeochemistry of Trace Metals and Diffuse Pollution in Mangrove Ecosystems. International Society for Mangrove Ecosystems, Okinawa.
- Lamberti, A. 1969. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas do manguezal de Itanhaém. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo. Botânica* 23:1-217
- Lara R N and Cohen M. 2006. Sediment porewater salinity, inundation frequency and mangrove vegetation height in Bragança, North Brazil: an ecohydrology-based empirical model. *Wet. Ecol. Manag* 14: 349–358.
- Law R. J. & Biscaya J. L. 1994. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH): problems and progress in sampling, analysis and interpretation. *Marine pollution bulletin*, 29:235-241.
- Law R. J., Dawes V. J., Woodhead R. J. and Matthiessen P. 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in seawater around England and Wales. *Marine Pollution Bulletin*, 34:306-322.

- Le Dréau, Y.; Jacquot, F.; Doumenq, P.; Guiliano, M.; Bertrand, J.C.; Mille, G. 1997. Hydrocarbon balance of a site which had been highly and chronically contaminated by petroleum wastes of a refinery (from 1956 to 1992) – *Marine Pollution Bulletin* 34:456-468.
- Lee, M.L.; Novotny, M.V. & Bartle, K.D. 1992. *Analytical Chemistry of Polycyclic Compounds*. Academic Press. p.462. New York.
- Lopes, W. A.; De Andrade, J. B. 1996. Fonte, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. *Química Nova*, 19:497-516.
- Lugo, A. E. & Snedaker, S. C., 1974. The ecology of mangroves. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 5: 39-64.
- Luoma, S. N. 1983. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms: a review. *Sci. Total Environ.* 28:1-22.
- Luoma, S. N. 1989. Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements? *Hydrobiologia* 176/177:379-396.
- Luthy R G, 2003. *Bioavailability of Contaminants in Soils and Sediments: Processes, Tools, and Applications*. Committee on bioavailability of contaminants in Soils and sediments. [Http://www.nap.edu/catalog/10523.html](http://www.nap.edu/catalog/10523.html).
- Maciel-Souza M C, Macrae A, Volpon A G T, Ferreira P S, Mendonça-Hagler L C. 2006. Chemical and microbiological characterization of mangrove sediments after a large oil-spill in Guanabara Bay - RJ – Brazil. *Braz J Microbiol* 37: 262-266.
- Mai B X, Qi S H, Zeng E Y, Yang Q S, Zhang G, Fu J M, Sheng G Y, Peng P A and Wang Z S. 2003. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the coastal

- region off Macao, China: assessment of input sources and transport pathways using compositional analysis. *Environ Sci Technol* 37: 4855-4863.
- Marsh J B and Wenstein D B. 1966. A simple charring method for determination of lipids. *J Lipid Res* 7: 574–576.
- Mastral A. M. and Callén M. S. 2000. A Review on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Emissions from Energy Generation *Environ. Sci. Technol.*, 34:3051–3057.
- Mazzera D., Hayes T., Lowenthal D. and Zielinska B. 1999. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil at McMurdo Station, Antarctica *The Science of The Total Environment*, 229:65-71
- Medeiros P M, Bicego M C, Castelao R M, Del Rosso C, Fillmann G, Zamboni A J. 2005. Natural and anthropogenic hydrocarbons inputs to sediments to Patos Lagoon Estuary. *Braz Environ Int* 31: 77-87.
- Menchini E, Bertolaccini M A, Taggi F, Falleni F, Monfredini F. 1999. A 3-year study of relationships among atmospheric concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons, carbon monoxide and nitrogen oxides at an urban site. *Sci Total Environ* 241: 27–37.
- Meyer-Reil L-A and Koster M. 2000. Eutrophication of marine waters: effects on benthic microbial communities. *Mar Pollut Bull* 41: 255-263.
- Migaszewski Z M, Galuszka A and Paslawski P. 2002. Polynuclear aromatic hydrocarbons, phenols, and trace elements in selected soil profiles and plant bioindicators in the Holy Cross Mountains, South-Central Poland. *Environ Inter* 28: 303–313.

- Miguel, A. H. & Friedlander, S. K. 1978. Distribution of benzo[a]pyrene and coronene with respect to particle size in Pasadena aerosols in the submicron range. *Atmospheric Environment*, 12:2407-2413.
- Miller, J. C. and Miller, J. N. 1989. *Statistics for Analytical Chemistry*. 2. ed. Ellis Horwood, 227p.
- Mitchel J. 2000. Assessment and recommendations for the oil spill cleanup of Guanabara Bay, Brazil. *Spill Sci Technol B* 6: 89-96.
- Monod A, Sive B C, Avino P, Chen T, Blake D R, Rowland F S. 2001. Monoaromatic compounds in ambient air of various cities: a focus on correlations between xylenes and ethylbenzene. *Atmos Environ* 35: 135–149.
- Moreno García, H., Funes, S., 1991. Chapala el lago. Comisión del Agua. México.
- Munoz, D.; Doumenq, P.; Guiliano, M.; Jacquot, F.; Scherrer, P.; Mille, G. 1997. Long term evolution of petroleum biomarkers in mangrove soil (Guadeloupe) *Marine pollution Bulletin*, 34:868 – 874.
- Myers, C. R., and K. H. Nealson. 1988. Microbial reduction of manganese oxides: interactions with iron and sulfur. *Geochim. Cosmochim. Acta* 52:2727-2732.
- Nestrick, T.J. & Lamparski, L.L. 1982. Isomer-specific Determination of Chlorinated Dioxins for Assessment of Formation and Potential Environmental Emission from Wood Combustion. *Anal Chemistry*, 54:2292–2299.
- Nielsen, T.; Ramdahl, T.; Bjorseth, A. 1983. The fate of airborne polycyclic organic matter. *Environ. Health Perspectives*, 103:103-114.

- Nikolaou, K., Masclet, P.; Mouvier, G. 1984. Sources and Chemical Reactivity of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in the Atmosphere Critical Review. *The Science of the Total Environment*, 32:103-132.
- Noernberg M.A. & Lana P. C. A. 2002. Sensibilidade de manguezais e marismas a impactos por óleo: fato ou mito? uma ferramenta para a avaliação da vulnerabilidade de sistemas costeiros a derrames de óleo. *Geografares, Vitória*, 3:109-122.
- Novelli, Y.S. 1995. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar – Caribbean Ecological Research, SP, 64p.
- National Research Council (NRC). 1994. Alternatives for ground water cleanup. Washington, DC: National Academy Press.
- Odum, E. P. 1971. Fundamentos de Ecologia. Fundação Calouste Gulbenkian. Ed Lisboa, Portugal, 946 p.
- Ohkouchi N, Kawamura K and Kawahata H. 1999. Distributions of three- to seven-ring polynuclear aromatic hydrocarbons on the Deep Sea Floor in the Central Pacific. *Environ Sci Technol* 33: 3086-3090.
- Ollivon D.; Blanchard M. & Garban B.1998. PAH Flutuations in Rivers in the Paris Regions (France); Impacts of Flood and Rainy Events. *Water, Air and Soil Pollution*. n.115, p.429-444. França.
- Parker, J.G., 1983. A comparison of method used for the measurement of organic matter in marine sediments. *Chemistry and Ecology* 1,201–210.
- Perera, F. P. 1997. Environment and Cancer: Who Are Susceptible? *Science*, v. 278:1068-1073.

- Pereira Netto A D, Cunha I F, Muniz F C and Rego E C P. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons in street dust of Niterói City, RJ, Brazil. *Bull Environ Contam Toxicol* 72: 829–835.
- Pereira Netto A D, Sisino C L S, Moreira J C, Arbilla G and Dufrayer M. 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons in leachate from a municipal solid waste dump of Niterói City, RJ, Brazil. *Bull Environ Contam Toxicol* 68: 148–154.
- Pereira Netto, A. D.. Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras ambientais. 1999. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.
- Pereira Netto A.D., Moreira J.C., Dias A.E.X.O., Arbilla G., Ferreira L.F.V., Oliveira A.S. & Barek J. 2000. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. *Química Nova* 23:765–773.
- [Http://www.petrobras.com.br](http://www.petrobras.com.br). Acessado em janeiro de 1996.
- Pignatello J J. 2003. Sorption of small molecules to natural organic matter from humic acid to black carbon: a perspective on the nature pores. *Geophys Res Abs* 5: 12575.
- Pisupatí, S. V.; Wasco, R. S. & Scaroni, A. W. 2000. An Investigation on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Emissions from Pulverized Coal Combustions Systems. *J. Hazard. Mater*, 74:91-107
- Potin O., Rafin C. and Veignie E. 2004. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54:45-52.

- Pusceddu A, Sara G, Armeni M, Fabiano M and Mazzola A. 1999. Seasonal and spatial changes in the sediment organic matter of a semi-enclosed marine system (W-Mediterranean Sea). *Hydrobiol* 397: 59-70.
- Pusceddu, A., Dell'Anno, A., Fabiano, M. & Danovaro, R., 2004. Quantity and biochemical composition of organic matter in marine sediments. *Biologia Marina Mediterranea*, 11(1): 39-53.
- Ravi A V and Kathiresan K. 1990. Seasonal variation in gallotannin from mangroves. *Indian J Mar Sci* 19: 224-225.
- Readman, J.W.; Bartocci, J; Tolosa, I; Fowler, S.W.; Oregioni, B.; Abdulraheem, M.Y. 1996. Recovery of the coastal marine environment in the Gulf following the 1991 war – related oil spills – *Marine Pollution Bulletin*, 32, 493 – 498.
- Readman, J.W.; Fillmann, G.; Tolosa, I.; Bartocci, J.; Villeneuve, J.P.; Catinni, C.; Lee, L.D. 2002. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea – *Marine Pollution Bulletin*, 44 (1) 48 – 62.
- Rego E C P and Pereira Netto A D. 2007. PAHs and BTEX in Groundwater of Gasoline Stations from Rio de Janeiro City, Brazil. *Bull. Environ. Contam Toxicol* 79: 660–664.
- Relexans J-C. 1996. Measurement of the respiratory electron transport system (ETS) activity in marine sediments: state-of-the-art and interpretation. I. Methodology and review of literature data. *Mar Ecol-Prog Ser* 136: 277-287.
- Ribeiro, F.A. 2001. Aplicação de Método de Análise Multivariada no Estudo de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. 2001. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química, Campinas, Unicamp. São Paulo. 2001.



- Rice D L. 1982. The detritus nitrogen problem: new observation and perspectives from organic geochemistry. *Mar Ecol-Prog Ser* 9: 153–162.
- Rodrigues, F.O. 1997 Derramamentos de óleo no ecossistema manguezal: limpeza do ambiente, efeitos e metodologia de estudo - Dissertação de mestrado - USP, SP, 190p.
- Saad, S; Husain M. L; Yaacob R. and Asano T. 1999. Sediment accretion and variability of sedimentological characteristics of a tropical estuarine mangrove: Kemaman, Terengganu, Malaysia. *Mangrove and salt marsh*, 3:51-58.
- Saar R A and Weber J H. 1982. Fulvic acid: modifier of metal-ion chemistry. *Environ Sci Technol* 16: 866-872.
- Saenger P. 2003. *Mangrove Ecology, Silviculture and Conservation*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 372 pp.
- Samanta, S.K.; Singh, O.V.; Jain, R.K. 2002. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Pollution and Bioremediation. *Trends in Biotechnology*, .20.:243-248.
- Schauer, J.J.; Rogge, W.F.; Hildemann, L.M.; Mazurek, M.A.; Cass, G.R.; Simoneit, B.R.T. 1996. Source Appointment of Airborne Particulate Matter Using Organic Compounds as Tracers. *Atmospheric Environment*. n.30, p.3837–3855.
- Schnoor, J. L. 1996. *Environmental modeling: fate and transport of pollutants in water, air, and soil*. New York: Wiley and Sons.
- Schurath, U. 1997. Atmospheric aerosols – Sources and sinks of reactive trace gases. *Journal of Aerosol Science.*, 28:31-33.
- Schwarzenbach, R. P., P. M. Gschwend, and D. M. Imboden. 1993. *Environmental organic chemistry*. New York: John Wiley & Sons.

- SCPMEU, 1985. Oil in the sea. Inputs, Fates and Effects. Steering Committee for the petroleum in the Marine Environmental Update. National Academy Press. 601. P.
- Schaeffer-Novelli, Y. 1995. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo, Caribbean Ecological Research.
- Shepard F P. 1954. Nomenclature based on sand-silt-clay ratios. *J Sediment Petrol* 24: 151-158.
- Silva, E.M., Peso-Aguiar, M.C., Navarro, M.F.T. & Chastinet, C.B.A. 1997. Impacto f petroleum pollution on aquatic costal ecosystem in Brazil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16:112-118.
- Soares M LG, Silva Jr C M G, Cavalcanti V F, Almeida P M M, Monteiro A S, Chaves F O, Estrada G C D and Barbosa B. 2006. Regeneração de floresta de mangue atingida por óleo na Baía de Guanabara (Rio de Janeiro, Brasil): Resultados de 5 anos de monitoramento. *Geochem Bras* 20: 54-77.
- Stout, S.A.; Uhler, A.D.; Emsbo-Mattingly, S.D. 2004. Comparative Evaluation of Background Anthropogenic Hydrocarbons in Surficial Sediments from Nine Urban Waterway. *Environmental Science and Technology*. n.38, p.2987–2994.
- Stubberfield L C F and Shaw P J A. 1990. A comparison of tetrazolium reduction and FDA hidrolisis with other measures of microbial activity. *J Microbiol Met* 12: 151-162
- Suguo K. 1973. Introdução a Sedimentologia. Edgard Blucher, São Paulo, 317 p.
- Tam N F Y and Wong Y S. 1999. Mangrove soils in removing pollutants from municipal wastewater of different salinities. *J Environ Qual* 28: 556–64.

- Tam N F Y and Wong Y S. 2000. Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. *Environ Pollut* 110: 195–205.
- Tam N F Y and Yao M W Y. 2002. Concentrations of PCBs in coastal mangrove sediments of Hong Kong. *Mar Pollut Bull* 44: 642–51.
- Tam N F Y, Ke L, Wang X H and Wong Y S. 2001. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environ Pollut* 114: 255-263.
- Taniguchi M. and Iwakawa H. 2001. Measurements of submarine groundwater discharge rates by a continuous heat – type automated seepage meter in Osaka Bay, Japan. *J. Groundwater Hydrol.* 43:271–277.
- Tavares, T.M. 1997. Contaminação química no ambiente marinho in Baía de Todos os Santos: diagnóstico sócio - ambiental e subsídios para a gestão – Germen / Universidade Federal da Bahia – NIMA – Salvador, 151 – 164.
- Thoma, H. 1988. PCDD/F-Concentrations in Chimney Soot from House Heating System. *Chemosphere.* n.17, p.1369–1379.
- Trevors J. 1984. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O<sub>2</sub> concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil. *Water Res* 77: 285-293
- Van Brummelen, T. C., Verweij R. A.; Wedzinga S. A., Van Gestel C. A. M. 1996a. Enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons in forest soils near a blast furnace plant. *Chemosphere*, v.32, p. 293-314.
- Van Brummelen, T.C., Verweij R. A.; Wedzinga S. A., Van Gestel C. A. M. 1996b. Polycyclic aromatic hydrocarbons in earthworms and isopods from contaminated forest soils. *Chemosphere*, v. 32, p. 315-41.

- Venkataraman, C.; Kao, A.S. 1999. Comparison of Particle Lung Doses from Fine and Coarse Fractions of Urban PM-10 Aerosols. *Inhalation Toxicology*. n.11, p.151–169.
- Vilela C G, Sanjinés A E S, Ghiselli R O Jr, Filho J M, Baptista Neto J A and Barbosa C F. 2003. Search for Bioindicators of Pollution in the Guanabara Bay: Integrations of Ecologic Patterns. *An Inst Geoc (UFRJ)* 26: 25-35.
- Wake H. 2005. Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment. *Estuar Coast Shelf S* 62: 131–140.
- Wania F. & Mackay D. T. 1996. Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants. *Environment Science Technology*. n.30, p.390–396.
- Wasserman J C, Botelho A L M, Crapez M A C, Bispo M G S, Da Silva F S and Filgueiras C M. 2006. Hydrocarbons and Bacterial Activity in mangrove sediments from Guanabara Bay, Brazil. *Geochem Bras* 20: 30-41.
- Wasserman J C, Figueiredo A M G, Pellegatti F and Silva E V. 2001. Elemental composition of sediment cores from a mangrove environment using neutron activation analysis. *J Geochem Explor* 72: 129-146.
- Wilcke, W.; Amelung, W.; Krauss, M.; Martius, C.; Bandeira A.; Garcia, M. 2003. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Patterns in Climatically Different Ecological Zones of Brazil. *Organic Geochem*. n.34, p.1405–1417.
- Wilcke, M. K. & Amelung, W. 2002. Carbon Isotope Signature of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): Evidence for Different Sources in Tropical and Temperate Environments. *Environment Science Technology*. n.36, p.3530–3536.

- Wild, S.R. & Jones, K.C. 1995. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in the United Kingdom Environment: a Preliminary Source Inventory and Budget. *Environment Pollution*. n.88, p.91–108.
- Witt, G. 1995. Polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 31:237 – 248.
- Woodhead, R.J.; Law, R.J.; Matthiessen, P. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments around England and Wales, and their possible biological significance. *Marine Pollution Bulletin* 38:773- 790.
- Wunderli, S.; Zennegg, M.; Dolezal, I.S.; Noger, D.; Hasler, PH. 1996. Levels and Congener Pattern of PCDD/PCDF in Fly and Bottom Ash from Waste Wood and Natural Wood Burned in Small to Medium Sized Wood Firing Facilities in Switzerland. *Organohalogen Compounds*. n.27, p.231–236.
- Xue, W.L.; Warshawsky, D. 2004. Metabolic Activation of Polycyclic and heterocyclic aromatic Hydrocarbons and DNA Damage: a Review. *Toxicology Appl. Pharmacol.* n.206, p.73-93.
- Yang, G-P. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the South China Sea – *Environmental Pollution* 108, 163 – 171.
- Zakaria M P, Takada H, Tsutsumi S, Ohno K, Yamada J, Kouno E and Kumata H. 2002. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rivers and estuaries in Malaysia: a widespread input of petrogenic PAHs. *Environ Sci Technol* 36: 1907-1918.
- Zander, M.. 1980. Polycyclic Aromatic and heteroaromatic hydrocarbons. *The Handbook of Environmental Chemistry*, v.3, p.109-131.

Zheng G J, Lam M H W, Lam P K S, Richardson B J, Man B K W and Li A M Y. 2000.

Concentrations of persistent organic pollutants in surface sediments of the mudflat and mangroves at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin* 40:1210-1214.

Zheng G J, Man B K M, Lam J C W, Lam M H W and Lam P K S. 2002. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediment of a sub-tropical coastal wetland. *Water Res* 36: 1457–68.

## 10. ANEXOS

E-mail recebido do Editor Assistente dos Anais da Academia Brasileira de Ciências em 22 de janeiro de 2009.

REF.: 226/09

Dr. Fontana, Luiz

Thank you for submitting your manuscript "SUPERFICIAL DISTRIBUTION OF AROMATIC SUBSTANCES AND GEOMICROBIOLOGY OF SEDIMENTS FROM SURUÃ MANGROVE, GUANABARA BAY, RJ, BRAZIL" for publication in our journal "Anais da Academia Brasileira de Ciências" (AABC). Its reference code is 226/09. Please, use always this number in any correspondence regarding this manuscript. It will be evaluated and you will be contacted in due course.

At any stage you may check the status of your manuscript logging into the AABC website <http://aabc.abc.org.br>. In case of any doubt, contact our Editorial Office at [aabc@abc.org.br](mailto:aabc@abc.org.br). For more information about AABC style, see latest papers published in [www.scielo.br/aabc](http://www.scielo.br/aabc).

Thanks, once more, for your interest in the AABC.

Cordially,

M.L.Maioli  
Editorial Assistant - AABC  
Rua Anfilofio de Carvalho, 29/3rd floor  
Rio de Janeiro, RJ  
20030-060 Brazil

tel: +55.21.3907-8146 fax +55.21.3907-8104

web: <http://aabc.abc.org.br>

[aabc@abc.org.br](mailto:aabc@abc.org.br)

E-mail recebido do Editor Assistente da Revista - Quaternary and Environmental Geosciences em 1 de março de 2009.

[ABEQUA] Agradecimento pela Submissão

De: **Rodolfo José Angulo** (angulo@ufpr.br)  
Enviada: domingo, 1 de março de 2009 15:30:10  
Para: Luiz Francisco Fontana (lffontana@hotmail.com)

---

Luiz Francisco Fontana,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "GEOMICROBIOLOGIA DE TESTEMUNHOS DO MANGUEZAL DE SURUÍ, BAÍA DE GUANABARA - BRAZIL" para Quaternary and Environmental Geosciences. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:

<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/abequa/author/submission/13533>

Login: lffontana

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Rodolfo José Angulo  
Quaternary and Environmental Geosciences

---

Quaternary and Environmental Geosciences  
<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/abequa>



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)