



XIII ENCONTRO DE RECURSOS HÍDRICOS EM SERGIPE

USO DA ESPECTROMETRIA DE MASSA DE RAZÃO ISOTÓPICA DE CARBONO (GC/ $\delta^{13}\text{C}$ /IRMS) PARA AVALIAR FONTES DE *n*-ALCANOS SEDIMENTARES DO SISTEMA ESTUARINO SERGIPE-POXIM

*Michel Rubens dos Reis Souza*¹; *Ewerton Santos*²; *Jaiane Santos Suzarte*³; *Laiane Oliveira do Carmo*³; *Marcelo de Rosa Alexandre*³

RESUMO: *A análise de n-alcenos lineares pode ser utilizada como impressão digital química de possíveis derramamentos de óleo em ambientes aquáticos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar estes compostos em sedimentos coletados no sistema estuarino Sergipe-Poxim com o intuito de indicar possíveis fontes de matéria orgânica (MO) para identificar se há contaminação por petróleo no sistema estuarino Sergipe-Poxim. Sendo assim, os resultados quantitativos apresentaram baixas concentrações ($< 50 \mu\text{g g}^{-1}$) dos n-alcenos lineares, o que pode representar aporte biogênico. Os perfis cromatográficos apresentaram o C₂₉ como o principal carbono, o que traz uma possível influência de fontes a partir de plantas. Os índices preferenciais de carbono (IPC > 1) e razão Σ n-alcenos/n-C₁₆ < 30 , indicaram fontes biogênicas, enquanto que a razão terrestre/aquática (RTA) > 1 apresentou fontes de matéria orgânica terrígenas. No entanto, a razão pristano/fitano < 1 indicou origem petrogênica da MO. Sendo assim, a espectrometria de massa de razão isotópica de carbono (GC/ $\delta^{13}\text{C}$ /IRMS) apresentou dados mais exatos da variação de $\delta^{13}\text{C}$ dos n-alcenos lineares entre -35,09‰ (n-C₂₉) e -13,94‰ (n-C₂₀), confirmando fontes de MO biogênicas na região; e identificando prioritariamente a contribuição de plantas C₃, provenientes do manguezal da região de estudo.*

Palavras-Chave – Geoquímica orgânica; Fontes

1) Universidade de Tiradentes, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Aracaju, Sergipe, SE 49032-490, Brasil; (79)998296884 michel_rubens@hotmail.com;

2) Brown University, Departamento de Terra, Ciência Ambiental e Planetária, Providence, Rhode Island, RI 02912, Estados Unidos da América;

3) Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Química, São Cristóvão, Sergipe, SE 49100-000, Brasil.



1. INTRODUÇÃO

O sistema estuarino Sergipe-Poxim é um importante recurso hídrico do estado de Sergipe, principalmente para a capital Aracaju [Souza *et al.* (2018)]. Este sistema tem aproximadamente 9 km de extensão, uma largura máxima de 100 m e uma média de profundidade de 2 m, apresentando em seu curso dois parques municipais, o Parque Natural do Rio Poxim e o Parque dos Cajueiros; e uma extensa floresta de mangue, além de ser marcado por uma grande ocupação humana, que inclui residências e bairros comerciais [Nilin *et al.*, 2019)]. Além disso, é interligado ao oceano Atlântico, ao qual em Sergipe, ocorre exploração de petróleo *on shore*, o que pode trazer uma preocupação ao meio ambiente devido possíveis vazamentos de óleo. Além disso, em 2019, o mais recente e impactante derramamento de óleo no litoral brasileiro (de origem ainda desconhecida) apresentou rastros, quando toneladas de óleo cru foram observados no mar e na areia das praias deste estado.

Sendo assim, a avaliação geoquímica do destino e dos efeitos do óleo derramado exige que as impressões digitais químicas desse óleo e de seus resíduos sejam distinguíveis, principalmente em regiões de exploração de petróleo. De tal modo, estudos indicam lipídios como marcadores orgânicos alvo na determinação de ciclos biogeoquímicos [Ankit *et al.* (2012); Maioli *et al.* (2012)]. Ou seja, a distribuição de marcadores de óleo é aplicada para identificar várias fontes de hidrocarbonetos, distinguindo entre fontes mistas em sedimentos, sendo originárias de fontes biogênicas (por exemplo, plantas vasculares) ou antropogênicas (por exemplo, derramamento de óleo).

Os *n*-alcanos lineares representam uma classe de compostos considerados marcadores derivados do petróleo e exibem forte adsorção na MO presente nos sedimentos, sendo identificados em áreas costeiras. Portanto, é possível avaliar a origem da MO a partir destes compostos com base em alguns critérios como: (1) perfil cromatográfico, cuja predominância de *n*-alcanos lineares de cadeia curta ($\leq n-C_{21}$), cadeia média (*n*-C₂₁, *n*-C₂₃ e *n*-C₂₅) e cadeia longa (C₂₇-C₃₃), podem atribuir fontes como, respectivamente, bactérias e algas fotossintéticas; plantas aquáticas emergentes e submersas; ou terrestre, (2) índices de *n*-alcanos lineares, dentre eles: razão terrestre/aquática (RTA), índice de preferência de carbono (IPC) e Σn -alcanos/*n*-C₁₆ ou, (3) razões isotópicas de carbono (GC/ $\delta^{13}C$ /IRMS), nas quais a abundância relativa entre isótopos de carbono pode variar significativamente em função de processos físicos, químicos e biológicos, o que promove um fracionamento isotópico de natureza específica, permitindo assim um diagnóstico da origem deste composto através do empobrecimento ou enriquecimento do isótopo pesado [Ankit *et al.* (2012)]. Desta forma, a utilização desta técnica pode trazer de forma mais exata a origem da MO concedendo importantes informações que não puderam ser acessadas devido a limitações das demais análises.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi determinar por espectrometria de massa de razão isotópica de carbono (GC/ $\delta^{13}C$ /IRMS), pela primeira vez, fontes de MO a partir da análise de *n*-alcanos lineares extraídos de sedimentos superficiais coletados no sistema estuarino Sergipe-Poxim, confrontando estes resultados com perfis cromatográficos e índices dos *n*-alcanos. Vale ressaltar que as coletas foram realizadas antes do derrame ocorrido em 2019 e, sendo assim, poderão ser usados como comparativo de análise temporal em estudos recentes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras

Para esse estudo, 15 amostras de sedimentos superficiais (0-5 cm) foram coletadas na área de estudo (Souza *et al.*, 2018), usando uma draga tipo Van Veen em março de 2017 (período seco; maré cheia). A amostra P9M foi coletada no manguezal e próxima ao local da amostra P9. Uma vez coletado, foi adicionado diclorometano em cada amostra para impedir o crescimento de microrganismos. Todas as amostras foram armazenadas a 4 °C durante o transporte. Em laboratório,



as amostras foram congeladas (- 55 °C) e liofilizadas, pulverizadas e peneiradas com uma peneira de aço inoxidável (< 2 mm) antes da extração.

2.2 Padrões e Curvas analíticas

Os *n*-alcanos lineares (*n*-C₈ a *n*-C₄₀ + pristano e fitano: 500 µg mL⁻¹, em diclorometano) foram adquiridos na Sigma Aldrich, EUA. Os compostos certificados deuterados foram adquiridos na AccuStandard (EUA): mistura de sub-rogados (*n*-C₁₂-D₂₆, *n*-C₂₀-D₄₂, *n*-C₂₄-D₅₀ e *n*-C₃₀-D₆₂, 2000 µg mL⁻¹) usada como padrão de recuperação; e padrão interno *n*-C₁₆-D₃₄ (1000 µg mL⁻¹). As curvas analíticas foram preparadas em *n*-hexano em concentrações variando de 0,01 a 5,0 µg mL⁻¹.

2.3 Extração dos *n*-alcanos

A extração quantitativa por ultrassom foi a mesma seguida por Souza *et al.* (2018). No entanto, foi utilizada a primeira fração (F1) coletada, além da adição de padrão sub-rogado antes da extração e padrão interno no extrato final. O extrato (1 mL) foi injetado no GC-MS.

A extração qualitativa por extrator de solvente acelerado – ASE (ASE200, Dionex) com mistura de diclorometano/metanol (9:1, v/v) a 120 °C e 1.200 psi foi realizada utilizando 10 g de sedimento liofilizado. O extrato foi seco completamente e reconstituído em 0,3 mL (3x) de diclorometano/álcool isopropílico (2:1, v/v). Os lipídios totais foram separados em duas frações usando a coluna de extração em fase sólida empacotada com amino-propilsilil com os eluentes: 4 mL de diclorometano/álcool isopropílico (2:1, v/v) (fração neutra) e 4 mL de ácido acético a 4% (AcOH) em éter (Et₂O) (fração ácida). A fração neutra foi ainda separada na coluna de sílica gel (malha 230-400 mesh) e eluição com 4 mL de *n*-hexano para obter os *n*-alcanos lineares. O extrato foi reconstituído para 1 mL em *n*-hexano e 1 µL foi injetado no GC/FID. Posteriormente, a adução de uréia foi utilizada para separar *n*-alcanos lineares dos ramificados e/ou cíclicos. O extrato (1 µL) foi injetado no GC/δ¹³C/IRMS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas analíticas apresentaram boa linearidade ($r > 0,99$) para todos os compostos. O limite de quantificação (LQ) de cada analito foi de 0,002 µg g⁻¹ (primeiro ponto da curva analítica dividido pela massa do sedimento) e o limite de detecção (LD) foi 3x menor que o LQ, 0,0006 µg g⁻¹ (Souza *et al.*, 2018). Para confirmar a qualidade das extrações, os níveis de recuperação (em %) foram considerados satisfatórias e apresentaram para *n*-C₁₂-D₂₆, *n*-C₂₀-D₄₂, *n*-C₂₄-D₅₀ e *n*-C₃₀-D₆₂, respectivamente, 68 ± 13%, 75 ± 15,9%, 64 ± 18,6%, 57 ± 20,7% (n = 15). Além disso, os brancos de solvente não apresentaram compostos de interesse.

As concentrações dos *n*-alcanos lineares calculadas variaram de não-detectado (n.d.) a 0,525 µg g⁻¹ (P3), com uma mediana de 0,038 µg g⁻¹. O somatório total dos compostos, por amostra, variou de 1,06 µg g⁻¹ a 2,48 µg g⁻¹. Já os compostos isoprenóides como pristano e fitano apresentaram valores de 0,009 µg g⁻¹ a 0,023 µg g⁻¹, sendo apresentados em todas as amostras. A literatura indica que sedimentos marinhos ricos em MO podem conter até 100 µg g⁻¹ de *n*-alcanos lineares totais, sendo o ambiente considerado contaminado por petróleo quando > 100 µg g⁻¹. Já as regiões estuarinas não poluídas, geralmente, apresentam concentrações abaixo de 10 µg g⁻¹ [Readman *et al.* (2002)]. Deste modo, as concentrações observadas neste trabalho indicam uma não presença destes compostos a partir de contaminação petrolífera. No entanto, quando as concentrações de hidrocarbonetos são < 50 µg g⁻¹, geralmente é necessária um estudo mais detalhado dos *n*-alcanos lineares para avaliar a magnitude da contaminação antropogênica [Readman *et al.* (2002)]. Sendo assim, a distribuição dos



n-alcanos lineares variou prioritariamente entre *n*-C₁₀ a *n*-C₃₉ e/ou *n*-C₄₀, como apresentado nos perfis cromatográficos na Figura 1.

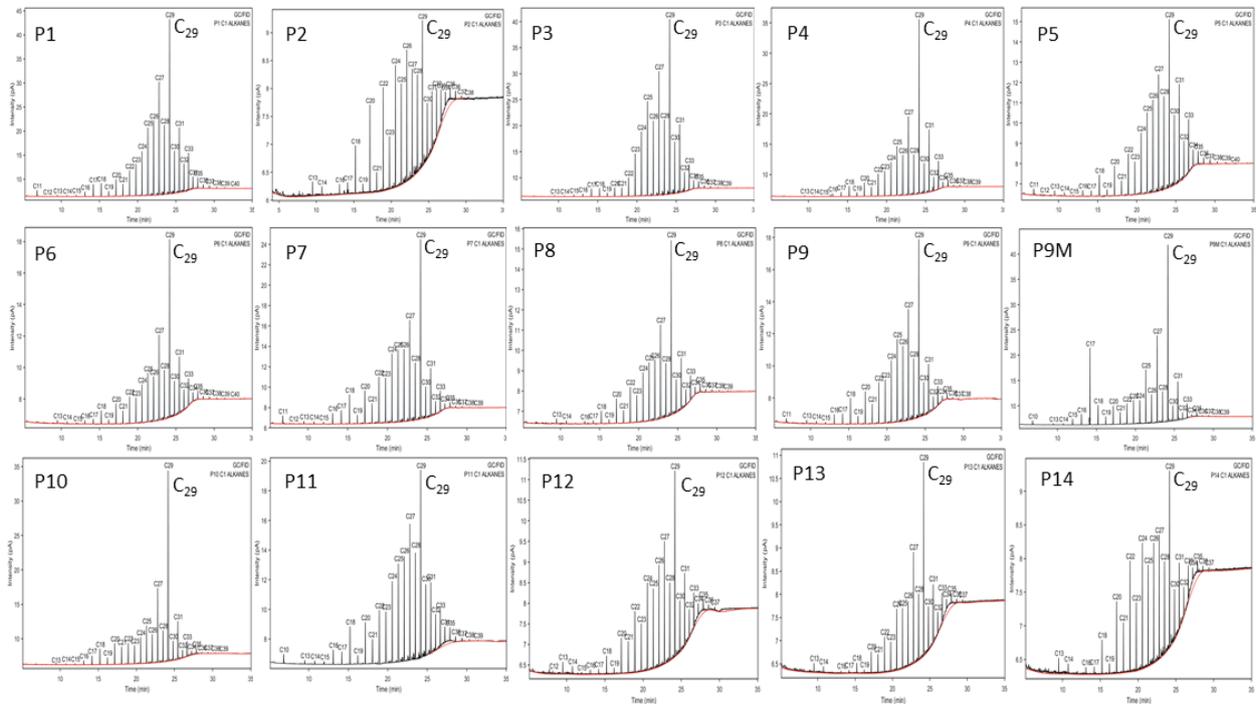


Figura 1 – Perfis cromatográficos por GC/FID dos *n*-alcanos lineares determinados nas 15 amostras sedimentares.

O plâncton marinho (ex.: cianobactérias e algas) apresenta majoritariamente o predomínio de *n*-alcanos ímpares de cadeia curta entre C₁₅ e C₁₉. Plantas terrestres exibem o predomínio de *n*-alcanos ímpares de cadeia longa entre C₂₃ a C₃₃. Por outro lado, *n*-alcanos petrogênicos termicamente maduras como óleo cru, carvão e xisto podem apresentar uma distribuição de *n*-alcanos preferencialmente variando entre *n*-C₁₅ e *n*-C₂₅. Vale ressaltar que o óleo bruto, após ser introduzido no meio marinho, sofre o processo de intemperismo natural resultando na degradação dos *n*-alcanos de cadeia curta, sendo assim os *n*-alcanos de origem petrogênica não apresentam predominância de cadeias de carbono pares ou ímpares. Neste trabalho, existiu a predominância de carbonos de cadeia ímpar na maioria das amostras, principalmente *n*-C₂₇ e *n*-C₂₉, sendo este último o prioritário. Além disso, os perfis cromatográficos apresentaram mais *n*-alcanos de cadeia longa, o que denota uma produção terrestre a partir de plantas, no entanto, algumas amostras apresentaram uma variação entre carbonos pares a ímpares, além de, por exemplo, na amostra P9M apresentar um *n*-C₁₇ considerável, podendo ter sido produzido a partir de bactérias e algas fotossintéticas. No entanto, a simples observação da predominância dos compostos não deixa claro qual a fonte preferencial de MO para algumas das amostras deste sistema. Logo, foram realizados cálculos dos índices diagnósticos.

A avaliação do índice preferencial de carbono (IPC) apresentou valores acima de 1 (Tabela 1), indicando fontes biogênicas para estes compostos, mas alguns muito próximos de uma unidade, o que apresenta uma dúvida da origem dessa MO, podendo ser referenciada como petrogênica em algumas amostras, o que poderia ser confirmado a partir dos valores da razão pristano/fitano (PRI/FIT) que foram < 1, o que indica origem petrogênica. Mas, a razão terrestre/aquática (RTA) foram > 1, sendo indicativo de fontes de MO terrestre (Ex.: plantas superiores) e não de origem aquática. A razão Σ*n*-alcanos/*n*-C₁₆ < 30 também caracterizou os *n*-alcanos lineares como de origem biogênica. Portanto,



percebe-se que os resultados das razões diagnósticas como um todo caracterizaram fontes mistas de MO.

Tabela 1. Índices diagnósticos calculados para os *n*-alcanos lineares deste trabalho.

Estação de coleta	Índices diagnósticos			
	IPC	PRI/FIT	RTA	Σn -alcanos/ <i>n</i> -C ₁₆
P1	1,46	0,82	4,02	108,0
P2	1,02	0,62	3,52	78,0
P3	3,18	0,85	7,54	117,5
P4	1,57	0,70	4,37	88,9
P5	1,20	0,66	2,94	82,3
P6	1,09	0,66	2,52	83,6
P7	1,13	0,65	2,95	96,1
P8	1,11	0,64	2,42	91,0
P9	1,22	0,64	3,00	79,4
P9M	1,87	0,78	2,97	94,9
P10	2,03	0,65	6,21	111,8
P11	1,10	0,62	2,56	88,4
P12	1,05	0,61	2,21	87,0
P13	1,08	0,78	2,35	87,7
P14	1,04	0,63	2,21	87,2

Sendo assim, é necessário analisar os dados por uma técnica mais exata para eximir as dúvidas de indicação de fontes desta MO. Portanto, a composição isotópica de carbono estável ($\delta^{13}\text{C}$) para os *n*-alcanos lineares detectados nas amostras de sedimento variou entre -35,09‰ (*n*-C₂₉) e -13,94‰ (*n*-C₂₀). Assim, esta variação está de acordo com uma contribuição de MO biogênica. Neste contexto, os valores médios para os *n*-alcanos pares (*n*-C₁₈ – *n*-C₃₄) por amostra variaram entre -29,35‰ (P3) e -24,42‰ (P5), enquanto que para os *n*-alcanos ímpares (*n*-C₁₇ - *n*-C₃₅), a variação média foi de -34,20‰ (P13) a -29,43‰ (P9M). Já a razão isotópica dos *n*-alcanos de cadeia curta (*n*-C₁₇ - *n*-C₂₄) exibiram valores entre -28,96‰ (P1) e -21,02‰ (P8), e de cadeia longa de -34,20‰ (P13) e -29,68‰ (P5). A literatura [Maioli *et al.* (2012)] indica algumas variações características de $\delta^{13}\text{C}$ para *n*-alcanos, por exemplo, os valores entre -39‰ e -31‰ estão associados a plantas C₃ (ex.: vegetações arbóreas e arbustivas que fixam o CO₂ da atmosfera por carboxilação com bifosfato de ribulose – ciclo de Calvin–Benson; as plantas C₄ (ex.: gramíneas e as ciperáceas que fixam o CO₂ da atmosfera por carboxilação de piruvato de fosfoenol – ciclo de Hatch–Slack) apresentam valores de -25‰ a -18‰; e as plantas do tipo MAC (metabolismo ácido das crassuláceas), que podem usar ambos os caminhos de fixação (ex.: orquídeas e cactáceas) apresentam valores intermediários entre -27‰ a -



25%. Portanto, os resultados deste trabalho são indicativos de fontes de MO terrestres associados a plantas C₃, provavelmente de manguezais, vegetação típica da região. Vale ressaltar que plantas aquáticas de água doce (terrestre) apresentam variação de $\delta^{13}\text{C}$ entre $\sim -28\text{‰}$ a -40‰ , sendo característicos de sinais isotópicos de *n*-alcanos de origem terrestre/continental como florestas de mangue. Outro critério usado para deduzir a influência de plantas C₃, C₄ e MAC está na análise da razão isotópica do C_{máx}, no caso, o C₂₉, a qual variou de $-35,09\text{‰}$ a $-32,23\text{‰}$, o que denota de forma majoritária a origem da MO a partir de plantas C₃.

4. CONCLUSÕES

Foram realizadas análises químicas de *n*-alcanos lineares a partir de amostras sedimentares coletadas no sistema estuarino Sergipe-Poxim, localizado em Aracaju-SE. Os resultados quantitativos apresentaram baixas concentrações dos compostos, indicando uma possível fonte natural de MO para o ambiente. No entanto, alguns perfis cromatográficos, junto a algumas razões diagnósticas propuseram uma possível contaminação petrogênica. Logo, a origem da MO do ambiente a partir da análise de *n*-alcanos lineares só pode ser confirmada por uma análise mais exata como a espectrometria de massa de razão isotópica de carbono (GC/ $\Delta^{13}\text{C}$ /IRMS). Esta confirmou a fonte de MO biogênica, assim como apresentou dados que a MO é advinda majoritariamente de plantas C₃, provavelmente das florestas de mangue da região. Sendo assim, estes resultados podem ser utilizados como base de dados para uma possível comparação futura da condição ambiental deste sistema estuarino, principalmente após o derrame de óleo cru ocorrido no oceano Atlântico em 2019 e que impactou o litoral sergipano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Apoio à Pesquisa e Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe - FAPITEC/SE (Edital FAPITEC/SE/CAPES nº10/2015) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (PDSE - Edital nº 19/2016 - Número do processo: 88881.133986 / 2016-01) pelo apoio financeiro e ao professor Yongsong Huang (Brown University).

REFERÊNCIAS

- ANKIT, Y; MISHRA, P.K.; KUMAR, P; JHA, D.K.; KUMAR, V.V.; AMBILI, V.; ANOOP A (2017). “*Molecular distribution and carbon isotope of n-alkanes from Ashtamudi Estuary, South India: Assessment of organic matter sources and paleoclimatic implications*”. Marine Chemistry 196, pp. 62 – 70.
- MAIOLI, O.L.G.; OLIVEIRA, C.R.; SASSO, M.A.D.; MADUREIRA, L.A.S.; AZEVEDO, D.A.; AQUINO NETO, F.R. (2012). “*Evaluation of the organic matter sources using the $\delta^{13}\text{C}$ composition of individual n-alkanes in sediments from Brazilian estuarine systems by GC/C/IRMS*”. Estuarine, Coastal and Shelf Science 114, pp. 140 – 147.
- NILIN, J.; SANTOS, A.A.O.; NASCIMENTO M.K.S. “*Ecotoxicology assay for the evaluation of environmental water quality in a tropical urban estuary*”. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2019, 91, pp. 1 – 10.
- READMAN, J.W.; FILLMANN, G.; TOLOSA, I.; BARTOCCI, J.; VILLENEUVE, J.-P.; CATINNI, C.; MEE, L.D. (2002). “*Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. Marine Pollution Bulletin*” 44, pp. 48 – 62.
- SOUZA, M.R.R.; SANTOS, E.; SUZARTE, J.S.; CARMO, L.O.; FRENA, M.; DAMASCENO, F.C.; ALEXANDRE, M.R. (2018). “*Concentration, distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Poxim River sediments, Brazil*”. Marine Pollution Bulletin 127, pp. 478 – 483.