Mauricio Antônio Covre Coimbra

**Avaliação dos resultados analíticos de hidrocarbonetos como
instrumento jurídico em caso de derrames de petróleo: mangue
de Bertioga**

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Oceanografia Química e Geológica.

Orientadora:

Profa. Dra.. Márcia Caruso Bicego

São Paulo

2006

Universidade de São Paulo

Instituto Oceanográfico

**Avaliação dos resultados analíticos de hidrocarbonetos como
instrumento jurídico em caso de derrames de petróleo: mangue de
Bertioga**

Mauricio Antônio Covre Coimbra

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em
Ciências, área de Oceanografia Química e Geológica

Julgada em ____/____/____

Prof. Dr.

Conceito

Prof. Dr.

Conceito

Prof. Dr.

Conceito

“Nenhum homem é uma ilha isolada; cada homem é uma partícula do continente, uma parte da terra; se um torrão é arrastado para o mar, a Europa fica diminuída, como se fosse um promontório, como se fosse a casa dos teus amigos ou a tua própria, a morte de qualquer homem diminui-me, porque sou parte do gênero humano. E por isso não perguntes por quem os sinos doam; eles doam por ti.”

(John Donne)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente devo agradecer ao meu amigo do IQ-USP, que atualmente vejo pouco, Laércio, por me apresentar o LAB-QOM, onde reencontrei a Satie, a qual me ajudou imensamente no Laboratório juntamente com o Silvio (“Eu não sou japonês, sou brasileiro”) e o Lourival.

Ao adentrar o LAB-QOM, fui apresentado inicialmente à Profa Dra Rosa que, com uma imensa simpatia, me recebeu no laboratório de uma maneira que eu não estava acostumado a receber na Graduação.

Após passar pelos trâmites legais de acesso ao Curso de Pós-Graduação do IO, a minha escolha para orientação foi a Profa Dra. Márcia, ou será que fui escolhido por ela!!!, pois ela tem o dom de escolher seus orientandos (Rafael meu primeiro “co-orientador”; Denis meu segundo “coco-orientador”).

A primeira e mais importante coisa que aprendi com a minha orientadora foi:

“No final tudo acaba bem!

Se não está bem,

é porque ainda não acabou! (Drummond apud Bicego)”

Aos participantes do LAB-QOM com quem convivi, Vera, César (meu terceiro “cococo-orientador”), “Caio Bonito”, “Caio Feio”, Juliana, meu muito obrigado por participarem deste convívio nos últimos anos.

E como último agradecimento aos participantes do LAB-QOM, não menos importante, ao Prof. Dr. Rolf Roland Weber que sempre acreditou em meu potencial em relacionar a Química com o Direito (espero não tê-lo decepcionado).

De maneira cordial, agradeço ao Prof. Dr. Pablo Vidal-Torrado, ao Dorival e Gisele Lopes Nunes da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, sem os quais não poderia ter realizado as coletas no mangue em Bertioiga.

Da mesma maneira agradeço a Profa Dra. Yara Schaeffer-Novelli por compartilhar comigo seus conhecimentos a respeito do derramamento de petróleo no mangue de Bertioiga.

E para começar a encerrar meus agradecimentos:

A minha família de 1º grau: Véio (pai), Gordinha (mãe); a de 2º grau: Cássia, Joãobucha e o Bicho (irmãos); os de 3º grau: Bruno, João Vitor, Pedro Henrique e Gabriel (sobrinhos) e os agregados de meus irmãos por terem paciência e compreensão em minhas ausências familiares.

Ao meu irmão, Bicho, com quem trabalho nos últimos quatro anos, reconheço e agradeço por ele entender minha dificuldade em chegar cedo ao serviço e de deixá-lo na mão algumas vezes em função do curso de Pós-Graduação.

Por fim agradeço à minha antiga e atual amiga-namorada, Megli.

“Data venia”

RESUMO

A avaliação da presença de hidrocarbonetos de petróleo em mangue na região entre a Estrada Rio-Santos e o Canal Bertioga – São Paulo – Brasil foi realizada através da análise de amostras de sedimento coletadas em testemunhos em épocas distintas (2001 e 2005). O rompimento de um oleoduto em outubro de 1983 derramou 3.000.000 litros de petróleo (também analisado) nesse local. Esse óleo desceu pelo Rio Iriri até atingir o Canal de Bertioga, espalhando-se por cerca de 60 quilômetros. Uma batalha jurídica teve início em 1985 e se encontra atualmente em fase de execução da sentença. Neste trabalho foram descritas algumas questões jurídicas envolvendo o derramamento ocorrido e as análises químicas para serem utilizadas como nexos causais. Os hidrocarbonetos foram analisados através da extração com solvente orgânico em sistema Soxhlet e por cromatografia a gás com detecção de ionização de chama (GC-FID) para n-alcanos e alcanos isoprenóides e com espectrometria de massas (GC-MS) para biomarcadores de petróleo e compostos policíclicos aromáticos (CPAs). Os resultados dos hidrocarbonetos alifáticos somente permitiram avaliar a contribuição de origem petrogênica pela presença de mistura complexa não resolvida (UCM) em algumas amostras de sedimentos. Não foi possível avaliar a contribuição petrogênica nos sedimentos baseado nas concentrações de n-alcanos, de alifáticos totais e as relações pristano/fitano, pristano/n-C17 e fitano/n-C18. A relação entre os homólogos e isômeros dos biomarcadores de petróleo, entretanto, indicou a presença do petróleo derramado no mangue depois de duas décadas. As maiores concentrações dos biomarcadores de petróleo foram encontradas na região mais próxima do derramamento e nos topos dos testemunhos. As análises de CPAs nos sedimentos foram importantes para a identificação de compostos mutagênicos e carcinogênicos provenientes do petróleo derramado no mangue.

Palavras-chave: biomarcadores de petróleo, n-alcanos, CPAs, petróleo em mangue, nexos causal, mangue de Bertioga

ABSTRACT

The evaluation of the presence of hydrocarbons of oil in mangrove in the region between the Rio-Santos Road and Bertioga Channel - São Paulo - Brazil was carried out through the analysis of sediment samples collected in cores in distinct times (2001 and 2005). The disruption of a pipeline in October of 1983 spilled 3,000,000 of liters of petroleum (also analyzed) in that area. That oil has gone down the Iriri River as far as the Bertioga Channel and has spread for about 60 kilometers. A judicial process has been started in 1985 and nowadays it is in the final phase when the sentence will be given by the law court. In this work some legal issues involving the occurred spilling and the chemical analyses have been described to be used as causal nexus. The hydrocarbons have been analyzed through an organic solvent extraction using Soxhlet apparatus and gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) for n-alkanes and isoprenoids alkanes, and with mass spectrometer (GC-MS) for petroleum biomarkers and polycyclic aromatic compounds (PACs). The analysis of the aliphatic hydrocarbons allowed evaluating only the contribution of petrogenic origin through the presence of unresolved complex mixture (UCM) in some sediment samples. It has not been possible to evaluate the petrogenic contribution in the sediments based on the concentrations of n-alkanes, total aliphatic hydrocarbons and the ratios between pristane/n-C17 and phythane/n-C18. The ratio between petroleum biomarker homologous and isomers has indicated the presence of the oil spilled in the mangrove after two decades. The highest concentrations of the petroleum biomarkers have been found in the region next to the spilling and in the top-core samples. The analyses of CPAs in the sediments have been important to the identification of mutagenic and carcinogenic compounds present in the petroleum spilled in the mangrove.

Key words: petroleum biomarkers, n-alkanes, PACs, petroleum in mangrove, causal nexus, Bertioga Channel

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS	ix
I - INTRODUÇÃO	1
I.1) Considerações Gerais	1
I.2) Aspectos jurídicos	2
I.2.1) Princípio da prevenção	3
I.2.2) Princípio da precaução	4
I.2.3) Princípio do poluidor-pagador	4
I.2.4) Responsabilidade jurídica e o nexo causal	4
I.2.5) Prescrição em Direito Ambiental	5
I.2.6) Poluição	6
I.2.7) Dano Ambiental.....	7
I.2.8) Histórico do Rompimento do Oleoduto	8
I.3) Introdução de Petróleo no Meio Ambiente	14
I.3.1) Aspectos químicos	14
I.3.2) Origem dos hidrocarbonetos no meio marinho	14
I.3.2.1. n- Alcanos.....	15
I.3.2.2. Alcanos isoprenóides.....	18
I.3.2.3. Mistura complexa não-resolvida (UCM).....	20
I.3.2.4. Biomarcadores de Petróleo (Alcanos Policíclicos).....	21
I.3.2.4.1. Terpanos Tricíclicos	22
I.3.2.4.2. Terpanos Tetracíclicos	23
I.3.2.4.3. Triterpanos Pentacíclicos (Hopanos)	23
I.3.2.4.4. Esteranos	26
I.3.2.5. Compostos Policíclicos Aromáticos (CPAs)	29
I.3.2.5.1. CPAs de origem petrogênica	31
I.3.2.5.2. CPAs de origem natural.....	32

I.3.3) Degradação do Petróleo	33
I.3.4) Petróleo no mangue.....	35
II - OBJETIVOS.....	39
III - ÁREA DE ESTUDO	40
III.1) O Canal de Bertioga	40
III.1.1) Geologia.....	43
III.1.2) Clima	44
III.1.3) Relevo	44
IV - MATERIAIS E MÉTODOS	45
IV.1) Coleta de amostras de sedimento	45
IV.2) Análises de Amostras de Sedimento e no Petróleo.....	47
IV.2.1) Vidraria, Reagentes e Gases	47
IV.2.2) Análise de Hidrocarbonetos em Sedimento e no Petróleo..	48
IV.2.3) Condições e Análises Cromatográficas	50
IV.2.3.1. Análise dos n-alcanos e dos alcanos isoprenóides	50
IV.2.3.2. Análise dos Biomarcadores de Petróleo.....	51
IV.2.3.3. Análise dos Compostos Policíclicos Aromáticos	52
IV.2.3.4. Controle das Análise de Sedimento.....	53
IV.2.3.4.1. Análise do “Branco” (controle das extrações).....	53
IV.2.3.4.2. Recuperação	54
IV.2.3.4.3. Material de Referência Certificado	55
V - RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
V.1) Alcanos.....	57
V.2) Biomarcadores de Petróleo	66
V.3) Compostos Policíclicos Aromáticos (CPA).....	75
VI - CONCLUSÕES	82
VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Foto aérea (1977) da região do mangue de Bertioga de antes do acidente.....	10
Figura 2: Foto aérea (1987) da região do mangue de Bertioga, 4 anos depois do acidente.	11
Figura 3: Foto aérea atual (2006) da região do mangue de Bertioga.....	13
Figura 4: Estrutura dos n-alcanos	16
Figura 5: Estrutura do Isopreno e do Fitol	18
Figura 6: Estrutura do pristano e fitano	19
Figura 7: Cromatograma da fração alifática da região de mangue de Bertioga	20
Figura 8: Estrutura do terpanos tricíclicos	22
Figura 9: Estrutura do terpanos tetracíclicos.....	23
Figura 10: Estrutura do terpanos pentacíclicos - hopanos	24
Figura 11: Provável origem de triterpanos pentacíclicos, como os hopanos (Volkman et al., 1997).....	24
Figura 12 Exemplos das estruturas tridimensionais com configurações estereoquímicas 17(H), 21(H) dos hopanos (Philp, 1985)	25
Figura 13: Estrutura do esteranos regulares e esteranos rearranjados ou diasteranos.....	26
Figura 14: Origem de esteranos a partir da redução de esteróis (Volkman et al., 1997)	27
Figura 15: Configurações estereoquímicas 5(H),14(H),17(H), C20 para os esteranos.....	28
Figura 16: Estruturas e nomenclatura IUPAC dos CPAs mais freqüentes nos sedimentos (Silva, 2005)	30
Figura 17: Localização de Bertioga, litoral do Estado São Paulo.....	40
Figura 18: Localização de Bertioga, litoral do Estado São Paulo (IGC, 2003).....	41
Figura 19: Localização do Rio Iriri. Mapa base: IGC –SP (1988). Limite interno do manguezal traçado por Machado (1992).....	42
Figura 20: Foto aérea da delimitação da área de Estudo (1988).	43
Figura 21: Localização dos testemunhos no mangue.	46

Figura 22: Fluxograma da extração e análise de hidrocarbonetos em sedimento e no petróleo	49
Figura 23: Rampa de aquecimento e condições para análise dos n-alcenos e isoprenóides.....	50
Figura 24: Rampa de aquecimento e condições para análise dos biomarcadores de petróleo e CPAs.....	52
Figura 25: Concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais	57
Figura 26: Concentração n-alcenos (n-C23 – n-C33) nas amostras	60
Figura 27: Concentração de n-alcenos de cadeias ímpares e pares totais nas amostras	61
Figura 28: Valor de CPI para as amostras	62
Figura 29: Razão pristano/C17 e fitano/C18	63
Figura 30: Razão pristano/fitano	63
Figura 31: Concentrações de UCM.....	65
Figura 32: Concentrações de biomarcadores de petróleo ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	70
Figura 33: Concentrações totais de terpanos, esteranos e hopanos nas amostras (ng.g^{-1})	71
Figura 34: Concentrações totais dos C31-C35 17 α ,21 β homohopanos 22S e 22R nas amostras de sedimento (ng.g^{-1} , peso seco) e no petróleo (ng.g^{-1}).....	73
Figura 35: Razão α,β S/(S+R) nas amostras de sedimento e no petróleo.	74
Figura 36: Concentração de total de CPAs (incluindo o perileno).....	75
Figura 37: Concentração de total de CPAs (exceto perileno).....	78
Figura 38: Concentração de total de CPAs de 2-3 anéis e de 4 – 6 anéis (exceto perileno)	79
Figura 39: Razão $\Sigma 2-3/\Sigma 4-6$ (exceto perileno)	79
Figura 40: Concentração total dos CPAs alquilados	80

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Delimitação da Área de Estudo	43
Tabela 2: Tabela de sub-amostragens analisadas em 2005 e 2001	45
Tabela 3: Material de Referência Certificado ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	56
Tabela 4: Concentrações de n-alcanos, alcanos isoprenóides em sedimentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$, peso seco) e no petróleo ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	58
Tabela 5: Concentrações alifáticos totais em sedimentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$, peso seco) e no petróleo ($\mu\text{g.g}^{-1}$) e suas razões	59
Tabela 6: Biomarcadores de petróleo analisados	66
Tabela 7: Concentrações de biomarcadores de petróleo (terpanos e hopanos) em sedimentos (ng.g^{-1} , peso seco), e no petróleo (ng.g^{-1}) ...	67
Tabela 8: Concentrações de biomarcadores de petróleo (esteranos) em sedimentos (ng.g^{-1} , peso seco), e no petróleo (ng.g^{-1})	68
Tabela 9: Concentrações biomarcadores de petróleo em sedimentos (ng.g^{-1} , peso seco), e no petróleo (ng.g^{-1}) e suas razões	69
Tabela 10: Concentrações de CPAs em sedimentos (ng.g^{-1} , peso seco) e no petróleo (ng.g^{-1})	76
Tabela 11: Concentrações de somas de CPAs em sedimentos (ng.g^{-1} , peso seco), e no petróleo (ng.g^{-1}) e suas razões	77

I - INTRODUÇÃO

I.1) Considerações Gerais

O Brasil não é diferente de outros locais no mundo, onde as áreas estuarinas estão sob constante risco de degradação ambiental, destacando-se as atividades da indústria petroquímica e o transporte de petróleo e seus derivados (incluindo os oleodutos) como potenciais degradadores.

No ambiente marinho, as áreas mais afetadas em um derramamento de petróleo são ecossistemas marinhos costeiros de baixa energia, como estuários, manguezais, recifes de corais e locais protegidos, onde o óleo pode permanecer por longo período, agravando os seus efeitos (NRC, 1986).

O manguezal é um ecossistema especial que se desenvolve nas áreas litorâneas tropicais. Ocorre em terrenos baixos, planos, em regiões estuarinas, às margens de lagunas ou ao longo de rios e canais naturais, até onde ocorre o fluxo das marés. Nesses locais a força da maré é branda e a velocidade das correntes é baixa, propiciando uma intensa deposição de sedimentos finos e matéria orgânica. O substrato formado tem consistência pastosa, pouco compactado, alagadiça, rica em matéria orgânica, pouco oxigenada e sujeito a períodos alternados de inundação e drenagem, conforme a variação das marés (IPT, 1988)

Em 14 de outubro de 1983, o rompimento de um trecho do tronco do oleoduto da PETROBRÁS (Petróleo Brasileiro S.A.) que liga o Terminal Marítimo Almirante Barroso (TEBAR) à Refinaria de Cubatão Presidente Bernardes provocou a liberação de petróleo que desceu pelo Rio Iriri até atingir e se espalhar pelo Canal da Bertioga (Novelli, 1986), caracterizando um dos maiores desastres ecológico do Brasil.

Em trabalho realizado pela Perita Judicial, Prof^a Dra. Yara Schaeffer-Novelli, em 10 de março de 1986, como Medida Cautelar Antecipatória de Prova, tendo como requerente o Ministério Público do Estado de São Paulo e requeridos a FIRPAVI – Construtora e Pavimentadora S.A. e PETROBRÁS, verifica-se a preocupação no impacto do meio ambiente e o principalmente com o tempo de recuperação do manguezal:

“i) Haveria possibilidade de indicar-se o tempo previsto para os trabalhos de recomposição das áreas atingidas?

A possibilidade de uma previsão cronológica para os trabalhos de acompanhamento da recomposição das áreas atingidas é praticamente muito difícil, pois cada espécie ou cada fator envolvido terá uma resposta diferente. Somente após alguns anos de observação é que se poderá fazer uma avaliação mais precisa. Segundo a literatura o tempo poderá variar de 1 a 2 anos para áreas de marismas, onde o impacto tenha sido de pequena monta, a períodos superiores a 3 décadas para áreas de manguezal que tenham sofrido um impacto severo. Seria muito interessante, neste acompanhamento, se pudesse contar com uma área significativa de reserva de manguezal afetado e não afetado, nas proximidades de Bertioga. Esta reserva poderia servir tanto para a continuidade das pesquisas como indicadora de soluções em casos de acidentes semelhantes, que viessem a ocorrer no futuro.”(resposta a quesito apresentado pelo Ministério Público do Estado de São Paulo).

I.2) Aspectos jurídicos

Os reflexos das agressões provocadas pelo homem ao meio ambiente no decorrer de vários séculos já se fazem sentir e de maneira grave, conforme se observa nas mudanças climáticas, na desertificação, na escassez da água, no efeito estufa e na poluição das águas. Isto tem levado à adoção de uma série de medidas, não só para preservar o que ainda resta incólume, como também para recuperar o que se encontra degradado (Freitas, 2005).

A proteção do meio ambiente e a sua reparação se constituem, na atualidade, numa das maiores preocupações do homem, inclusive no Direito, que pode ter refletido através do surgimento de um novo ramo: Direito Ambiental.

Como outros ordenamentos jurídicos, o Direito Ambiental tem amparo inicial na Constituição Federal de 1988. Em seu artigo 225, para citar apenas o parágrafo único, deixou consignado que “as atividades consideradas lesivas ao

meio ambiente sujeitarão os infratores, pessoas físicas ou jurídicas, a sanções penais e administrativas, independentemente da obrigação de reparar os danos causados.”

Essa disposição recepcionou o estabelecido na Lei 6.938, de 31.08.1981 (Lei da Política Nacional do Meio Ambiente), que impõe ao poluidor e ao predador a obrigação de recuperar e/ou indenizar os danos causados. Esta Lei foi utilizada como fundamento na petição do Ministério Público do Estado de São Paulo em 10 de março de 1986, na Medida Cautelar Antecipatória de Prova referente ao incidente do derramamento do petróleo.

A Medida Cautelar Antecipatória de Prova, como o nome indica, serve para levantar, averiguar, comprovar e registrar em juízo uma prova, que poderá ou não ser utilizada mais tarde em um outro processo.

Esta medida cautelar - de 10 de março de 1986 - foi utilizada em 23 de maio de 1988 na Ação Civil Pública (ACP) impetrada pela Equipe Regional de Proteção ao Meio Ambiente da Baixada Santista do Ministério Público do Estado de São Paulo contra a PETRÓLEO BRASILEIRO S.A. – PETROBRÁS e a FIRPAVI – Construtora e Pavimentadora S.A. (Processo nº 1414/88) juntamente com fundamento do artigo 3º, III, da Lei 6.938, e no artigo 3º da Lei 7.347, de 24 de junho de 1985, visando a condená-las ao pagamento de indenização por dano irreparável causado ao meio ambiente.

Deve-se lembrar que a Lei dos Crimes Ambientais (Lei 9.605) somente surgiria em 12 de fevereiro de 1998, dez anos depois da impetração desta ACP, por isto a lei dos crimes ambientais não foi e nem poderia ser utilizada pelo Ministério Público do Estado de São Paulo em 1988.

O ordenamento jurídico presente no direito ambiental brasileiro é vasto e desnecessário descrever todos seus detalhes neste contexto. É importante, entretanto, compreender alguns princípios e termos relacionados à questão da introdução de substâncias que degradem o meio ambiente.

1.2.1) Princípio da prevenção

Uma frase corriqueira demonstra este princípio de uma maneira clara: “mais vale prevenir do que remediar”, e em matéria ambiental, se mostra de

grande valia à medida que alguns danos ao ambiente são irrecuperáveis. Além disso, o custo da prevenção é significativamente menor do que o custo da reparação de prejuízos causados. Cabe ressaltar, que o mesmo dá legitimidade às medidas cautelares tendentes a evitar não só o início, como também a continuidade de atividades lesivas ao meio ambiente (Freitas, 2005).

I.2.2) Princípio da precaução

Ele se aplica aos casos em que ocorra dúvida, incerteza por falta de provas, a respeito do nexo causal entre uma atividade e um determinado fenômeno de poluição, neste caso deve-se decidir em favor ao meio ambiente, pois existe a dificuldade ou a impossibilidade de, em alguns casos, este se recompor (Freitas, 2005).

I.2.3) Princípio do poluidor-pagador

Este princípio não pode ser entendido literalmente, ou seja, não se resume ao 'poluiu, pagou'. Ele obriga o agente poluidor, pelas conseqüências de sua ação ou omissão, a pagar as despesas de prevenção dos danos contra o meio ambiente e as possíveis reparações (Freitas, 2005).

I.2.4) Responsabilidade jurídica e o nexo causal

A responsabilidade jurídica, a qual tem como objetivo identificar em um dano ambiental, é a responsabilidade civil objetiva, que independe da apuração de culpa. Ela é fundada na teoria do risco da atividade, ou seja, é o poluidor obrigado, independentemente da existência de culpa, a indenizar ou reparar os danos causados ao meio ambiente e a terceiros, afetados por sua atividade.

Mesmo que esta responsabilidade civil independa de culpa, é necessário o nexo causal entre a ação ou omissão de quem se pretende responsabilizar e o evento danoso. É preciso que haja relação de causalidade: a ação ou omissão deve, de forma direta ou indireta, ser causal e materialmente atribuída

a quem se pretende responsabilizar. Este é o ponto fundamental para a identificação da responsabilidade civil objetiva, o nexo causal.

I.2.5) Prescrição em Direito Ambiental

A prescrição pode ser confundida com a decadência, mas estas diferenças devem ser ressaltadas quando se deseja compreender melhor este “mundo jurídico”:

- decadência - certos direitos se extinguem pelo não-exercício durante um lapso de tempo previsto em lei;
- prescrição – posta subsista o direito, decorreu o prazo para que seu titular possa invocá-lo ativamente em juízo.

A Lei de Ação Civil Pública – LACP, instrumento pelo qual o Ministério Público atua em defesa ao meio ambiente, como no caso de derramamento de petróleo, não dispõe sobre prazos de decadência ou prescrição; cuidando-se da defesa de interesses transindividuais (são interesses que excedem o âmbito estritamente individual, mas não chegam a constituir um interesse público). O tratamento da decadência e da prescrição é dado pelo direito material ou processual.

Em matéria ambiental, a consciência jurídica indica a inexistência de direito adquirido de degradar a natureza. Da mesma forma, tem-se afirmado a imprescritibilidade da pretensão reparatória. Não se pode formar direito adquirido de poluir, já que o meio ambiente é patrimônio não só das gerações atuais como futuras. Pelo mesmo motivo, não se pode dar à reparação da natureza o regime de prescrição do direito privado. O direito ao meio ambiente é indisponível e imprescritível, embora seja patrimonialmente aferível para fim de indenização.

Não há de aplicar prazo de prescrição ou decadência para limitar o ajuizamento da ação civil pública, pois esta tem natureza ordinária, e direitos transindividuais ficariam indevidamente sem acesso à tutela jurisdicional.

Através destas definições, fica clara a importância do nexo causal, pois a defesa somente poderá objetar a inexistência do fato ou a inocorrência de

autoria para sua exclusão de responsabilidade, não podendo fazer uso da prescrição, decadência ou inexistência de culpa para esta finalidade. A existência do fato pode ser demonstrada, por exemplo, através de uma análise química de uma amostra local onde existe a suspeita da presença de petróleo, tornando-se um instrumento jurídico muito importante para identificar a existência de petróleo no meio ambiente.

I.2.6) Poluição

A poluição é conceituado pela legislação Brasileira desde 1981, com a Lei 6.938 de 31.08.1981 em seu artigo 3º, III como a degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente: prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; afetem desfavoravelmente a biota; afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente; lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos.

Porém esta definição, válida para as relações jurídicas brasileiras, entra em confronto com outras definições, e com a definição de contaminação que não é conceituada pela legislação brasileira, como por exemplo:

1. Poluição é a adição ou lançamento de qualquer substância, matéria ou forma de energia (luz, calor, som) ao meio ambiente em quantidades que resultem em concentrações maiores que as naturalmente encontradas (Moreira, 1990).

Contaminação é a introdução, no meio, de elementos em concentrações nocivas à saúde humana, tais como organismos patogênicos, substâncias tóxicas ou radioativas (Luttembarck, 1986).

2. Em Houaiss (2001) encontra-se poluição como substantivo feminino, ato ou efeito de poluir (tornar sujo; manchar, corromper); degradação das características físicas ou químicas do ecossistema, por meio da remoção ou adição de substâncias. Nesse mesmo dicionário encontra-se contaminação como substantivo feminino, ato ou efeito de contaminar(-se), fazer adquirir ou

adquirir infecção ou doença; infectar(-se), contagiar(-se); transmissão de germes nocivos ou de doença infecciosa; infecção por contato.

Toda esta diferença na definição de poluição e contaminação cria enormes dificuldades na apresentação dos estudos elaborados e apresentados nos tribunais brasileiros, pois muitos estudos se utilizam do termo poluição divergente da legislação brasileira, assim como usam diferentes definições de contaminação em seus relatórios.

Uma maneira para não incorrer neste erro, é demonstrando que existe introdução de uma substância ao meio ambiente ou não, e se a substância causou ou não um dano ambiental, evitando o uso dos termos poluição e/ou contaminação em seus trabalhos.

1.2.7) Dano Ambiental

Para o efeito de responsabilidade civil, o dano pode ser conceituado como “toda lesão nos interesses de outrem, tutelados pela ordem jurídica, quer os interesses sejam de ordem patrimonial, quer sejam de caráter não patrimonial” (Varela, 1977) e este deve ser concreto e provado, e também existir o nexo causal.

A legislação brasileira não conceitua o dano ambiental. Benjamin (1998), em artigo sobre responsabilidade civil pelo dano ambiental, definiu “dano ambiental como a alteração, deterioração ou destruição parcial ou total, de quaisquer dos recursos naturais, afetando adversamente o homem e ou a natureza”, ou seja é o resultado da introdução de uma substância ao meio ambiente afetando-o desfavoravelmente.

Desta maneira, é de extrema importância a constatação da presença da substância introduzida no meio ambiente e a possível relação com o dano ambiental.

I.2.8) Histórico do Rompimento do Oleoduto

Em 1969, a PETROBRÁS inaugura um oleoduto de 24 polegadas de diâmetro, que liga o Terminal Marítimo Almirante Barroso (TEBAR) à Refinaria de Cubatão Presidente Bernardes.

Em 14 de outubro de 1983, o rompimento de um trecho situado entre Monte Cabrão e a ponte do Rio Itapanhaú, km 93 da estrada Rio-Santos provocou a liberação de 3.000.000 de litros de petróleo que desceram pelo Rio Iriri até atingir o Canal de Bertioga, espalhando-se por cerca de 60 quilômetros da região.

Em 24 de maio de 1988, o Ministério Público do Estado de São Paulo, iniciou a ação civil pública, na 1ª Vara Cível da Comarca de Santos-SP, nº 1414/88 propondo contra a PETROBRÁS e a FIRPAVI a condenação a pagamento de indenização por dano irreparável causada ao meio ambiente.

Nesta ação o Ministério Público descreve que o rompimento deste oleoduto foi decorrente de explosões de dinamite de uma pedreira da empresa FIRPAVI no local, o que provocou o desabamento de uma pedra de 20 toneladas das encostas de um morro e caiu sobre a tubulação do oleoduto da PETROBRÁS.

Durante o processo, a empresa FIRPAVI tentou demonstrar que não era responsável pelo rompimento do oleoduto. Entre suas alegações esta afirma que estava cumprindo um contrato com Departamento Nacional de Estradas de Rodagem (DNER) de pavimentação da estrada Rio-Santos. E a DNER seria responsável pela pedra de 20 toneladas localizada na encosta do morro onde não ocorreria a pavimentação da estrada.

Outra alegação utilizada pela FIRPAVI, estava baseada no princípio da prevenção e precaução onde indicava a PETROBRÁS como responsável pelo dano ambiental causado.

A PETROBRÁS estava ciente do trabalho realizado pela FIRPAVI, inclusive que ela usava dinamite em seus trabalhos de pavimentação da estrada, comprovado por documentos apresentados no processo.

Segundo a FIRPAVI, a região possui um alto índice pluviométrico e suas explosões de dinamite provocaram um tremor no terreno, o que gerou o rolamento da pedra até o oleoduto e o seu rompimento.

Desta maneira, segundo a FIRPAVI, caso a PETROBRÁS respeitasse o princípio de prevenção e precaução e verificasse ao longo de seu oleoduto a existência de alguma pedra instável o acidente poderia ter sido evitado.

As alegações apresentadas pela PETROBRÁS ao longo do processo solicitavam a sua exclusão do processo por afirmar que a pedra de 20 toneladas não rolou até o oleoduto, e sim foi arremessada até o oleoduto.

Entre as alegações, a PETROBRÁS afirma que seu oleoduto estava enterrado a um metro do nível do terreno, o que demonstra conscientização e respeito aos princípios de prevenção e precaução.

Outra alegação, tanto utilizada tanto pela FIRPAVI como pela PETROBRÁS, é de que a verificação de um dano ambiental só pode ser conhecida em toda sua extensão caso se conheça seu estado anterior. Como durante todo o processo não foi apresentado pelo Ministério Público o estado anterior do ambiente, não é possível verificar qual o dano ambiental real provocado.

Embora existam trabalhos acadêmicos que estudam o derramamento de petróleo em mangue são poucos os apresentados durante o processo jurídico do mangue de Bertioga; destacando que a Profa Dra Yara Schaeffer-Novelli em seu trabalho de perícia apresenta vários trabalhos.

Um trabalho acadêmico sobre o acidente (Machado, 1992) demonstrou que houve dano ambiental causado pelo acidente. Isso pode ser observado nas Figuras 1 e 2 que são fotos aéreas da área antes e depois do derrame. Na Figura 2 na parte mais clara observa-se um visível dano na cobertura vegetal.

Figura 1: Foto aérea (1977) da região do mangue de Bertioga de antes do acidente.

Figura 2: Foto aérea (1987) da região do mangue de Bertioga, 4 anos depois do acidente.

Em 16 de agosto de 1994, o Tribunal de Justiça do Estado de São Paulo dá provimento ao apelo da PETROBRÁS em sentença para afastá-la do pólo passivo, porque ausente, contra ela, o nexo de causalidade.

Passado o período de trânsito julgado da sentença, a FIRPAVI tornou-se a única responsável pelo dano ambiental.

A FIRPAVI, em uma das suas ultimas alegações apresentou que o local onde ocorreu dano ambiental se recuperou, desta forma não existe mais o motivo para o pagamento da indenização por dano irreparável causada ao meio ambiente. Esta alegação pode ser baseada na Figura 3, comparando-se com a Figura 1 e 2.

Deve-se lembrar que a FIRPAVI afirmou que não se conhecia o estado do meio ambiente local antes do rompimento do oleoduto. O que se pode afirmar é que o meio ambiente atingiu um novo equilíbrio, e se este é o mesmo, não é possível de se afirmar.

Até a data de 14 de março de 2005 o processo contava com 8 volumes e 1795 páginas. Atualmente o processo se encontra em fase de execução da sentença.

Figura 3: Foto aérea atual (2006) da região do mangue de Bertioga

I.3) Introdução de Petróleo no Meio Ambiente

I.3.1) Aspectos químicos

A teoria mais aceita pelos geólogos para a origem do petróleo é que este é derivado de matéria orgânica de origem biológica. Durante o processo de formação do petróleo este está disperso, e se acumula por migração em reservatórios e finalmente se formam os poços de petróleo (Speers e Whithehead, 1969).

Portanto, para que se forme uma jazida petrolífera são necessárias as seguintes condições: a existência de sedimentos originalmente ricos em matéria orgânica, condições propícias às transformações químicas e bioquímicas dos compostos orgânicos, ocorrência de processos migratórios e rochas reservatórias com boa permeabilidade e porosidade a fim de que o petróleo possa escorrer livremente entre os interstícios, e também a existência de estruturas acumuladoras (Leinz e Amaral, 1966).

Devido a essas diferentes condições, cada óleo formado apresentará diferentes características, tanto físicas como químicas. Assim, uma definição precisa de petróleo é impossível, já que não existem dois óleos exatamente iguais (Speers e Whithehead, 1969).

Quimicamente falando, o petróleo apresenta milhares de compostos diferentes. Entre os principais componentes estão os hidrocarbonetos que chegam a atingir 98% da composição total (Clark e Bronw, 1977) e são utilizados como indicadores deste tipo de poluição. Entretanto os hidrocarbonetos também existem como produtos de biossíntese da maioria das plantas e animais. Desta maneira é necessário saber diferenciar os hidrocarbonetos do petróleo dos hidrocarbonetos biogênicos.

I.3.2) Origem dos hidrocarbonetos no meio marinho

As diferentes classes de hidrocarbonetos se comportam de maneira distinta no meio ambiente, em termos de tempo de residência, estabilidade, mecanismos de transporte e distribuição. As investigações sobre suas origens

exigem, portanto, a utilização de vários hidrocarbonetos, cujas estruturas moleculares estáveis sofrem pouca ou nenhuma alteração (Hostettler *et al.*, 1999).

Os hidrocarbonetos configuram uma classe de compostos orgânicos presentes tanto na constituição da matéria orgânica de origem vegetal e animal, como na composição do petróleo, o que lhes confere um grande potencial como indicadores dos níveis e a proveniência do material de origem natural e antrópica no ambiente (Figueiredo, 1999).

Os hidrocarbonetos do petróleo compreendem os n- alcanos, isoalcanos, cicloalcanos e aromáticos. Entre esses os predominantes são os alcanos normais saturados, e os alcanos com cadeia ramificada. Estes compostos contém quantidades de carbono que variam normalmente entre 1 e 40 átomos, podendo ser encontrados compostos com até 78 átomos de carbono (Ludwig, 1965).

O mais importante grupo de ramificados são os isoprenóides contendo mais do que 13 átomos de carbono (C_{13}) sendo o pristano (C_{19}) e o fitano (C_{20}) os mais abundantes (Albaigés, 1980).

Entre os cicloalcanos, em pequenas quantidades estão os biomarcadores de petróleo que possuem estruturas bastante variadas e complexas, divididos em terpanos, hopanos e esteranos.

Os aromáticos, usualmente em menores quantidades, contém um ou mais núcleos benzênicos conectados. Os compostos aromáticos polinucleares são os que contém mais de dois núcleos benzênicos e os naftenos aromáticos são os que apresentam estruturas cíclicas saturadas e aromáticas ao mesmo tempo.

1.3.2.1. n- Alcanos

Os n-alcanos (Figura 4), hidrocarbonetos alifáticos saturados de cadeia linear, são os maiores constituintes do petróleo. Os n-alcanos mais freqüentemente investigados no ambiente são os que possuem cadeias que variam de n- C_{12} – n- C_{34} pela possibilidade analítica. Os n-alcanos podem ser gerados por processos biológicos ou nos estágios primitivos da diagênese

(conjunto de processos físicos e químicos que atuam sobre o sedimento até sua consolidação).

Figura 4: Estrutura dos n-alcenos

Os estudos de n-alcenos tem sido freqüentemente realizados com a finalidade de se avaliar a principal contribuição, biogênica ou petrogênica, de hidrocarbonetos no ambiente marinho. As principais fontes biológicas destes compostos são: plantas terrestres, fitoplâncton, animais, bactérias, macroalgas e microalgas (Wang et al., 1999). Entretanto, fontes petrogênicas também contribuem significativamente, algumas vezes até em quantidades superiores às contribuições biogênicas (Bouloubassi & Saliot, 1993).

Os n-alcenos são os compostos predominantes entre os hidrocarbonetos biogênicos e foram observados em várias espécies. Essas espécies sintetizam um número limitado de compostos dentro de uma estreita faixa dos pontos de ebulição.

Tanto organismos marinhos como terrestres sintetizam n-alcenos em que predominam cadeias com números ímpares de carbono e muitas vezes um ou dois compostos entre estes são mais abundantes. No fitoplâncton marinho, por exemplo, os n-alcenos com 15, 17, 19 e 21 (n-C_{15} , n-C_{17} , n-C_{19} e n-C_{21}) carbonos são os mais abundantes (Blumer et al, 1971; Clark e Blumer, 1967).

N-alcenos de origem terrestre são principalmente associados ao metabolismo de plantas superiores. A composição das ceras cuticulares é caracterizada pela predominância marcante de compostos com alto peso molecular que apresentam cadeias com número ímpar de carbono que vão de n-C_{23} a n-C_{33} (Eglington et al, 1962; Caldicott and Eglington, 1973). Esses compostos podem ser introduzidos no meio marinho tanto por transporte fluvial como eólico.

No petróleo existem cadeias normais saturadas de 2 até mais de 60 átomos de carbonos. Há uma distribuição regular entre cadeias com números

ímpares e pares de carbono, não ocorrendo uma predominância fixa de determinados n-alcenos, ímpares ou pares (Hong et al., 1995).

Além do uso como marcadores da presença de óleo derramado no ambiente, os hidrocarbonetos saturados também são empregados na identificação do tipo de óleo, como indicador do destino do óleo e no monitoramento de variações da composição química do óleo devido a intemperismo e/ou biodegradação (Wang & Fingas, 1997).

A existência de uma predominância na introdução de n-alcenos de origem biológica pode ser evidenciada pela maior concentração de n-alcenos de cadeias ímpares. Macroalgas e organismos fitoplanctônicos sintetizam n-alcenos, principalmente com cadeias de 15 e 17 carbonos (Philp, 1985). A contribuição de origem terrestre natural ocorre através das plantas superiores (vasculares), que contribuem com cadeias ímpares entre C15 – C37, principalmente C27, C29 e C31, originadas das ceras cuticulares do tecido de revestimento (Volkman et al., 1992; Wang et al., 1999).

Uma das formas de identificar a predominância de biogênica ou petrogênica é através do índice preferencial de carbono (CPI), que é calculado através da soma dos n-alcenos ímpares sobre a soma dos pares, conforme mostra a equação seguinte (Aboul-Kassim & Simoneit, 1996):

$$CPI = \frac{1}{2} \times \left[\left(\frac{C25 + C27 + C29 + C31 + C33}{C24 + C26 + C28 + C30 + C32} \right) + \left(\frac{C25 + C27 + C29 + C31 + C33}{C26 + C28 + C30 + C32 + C34} \right) \right]$$

Valores encontrados para CPI > 1 indicam contribuição de fontes naturais. Valores de CPI em torno de 1 indicam uma contribuição predominantemente antrópica (Aboul-Kassim & Simoneit, 1996; IOC/UNEP, 1990).

Entretanto, em alguns casos, compostos originados a partir de matéria orgânica degradada ou mesmo de determinados organismos planctônicos também podem conduzir a valores de CPI próximos a 1, limitando o uso de forma isolada deste índice para a determinação da origem dos hidrocarbonetos (Bouloubassi, 1990).

Todas estas características podem ser consideradas na investigação da origem dos n-alcenos ou sua maior contribuição no ambiente marinho. Além

bactérias, os quais produzem sempre pristano em maior quantidade (Volkman et al., 1992).

Figura 6: Estrutura do pristano e fitano

Pristano e fitano constituem ainda os principais alcanos ramificados presentes no petróleo (Volkman et al., 1992), onde são originados aproximadamente na mesma proporção, diferentemente dos de origem biogênica (Bouloubassi, 1990).

Desta forma, quanto maior a razão pristano/fitano, maior a contribuição biogênica. Segundo Steinhauer & Boehm (1992), em sedimentos onde são encontrados os hidrocarbonetos de petróleo esta razão é próximo de 1,0 – 1,5 e quando a razão está entre 3-5 observa-se a contribuição biogênica.

Mesmo sabendo que esta razão apresenta valores elevados com um predomínio de origens biogênicas, estes alcanos isoprenóides também podem ser originados de uma variedade de outros precursores, como de lipídeos de certos organismos zooplanctônicos (Volkman et al., 1992), fazendo com que a razão pristano/fitano torne-se limitada.

Para a avaliação da biodegradação do óleo no ambiente, utilizam-se as razões pristano/n-C17 e fitano/n-C18. Isso porque os alcanos de cadeias normais são preferivelmente biodegradados por microorganismos. Valores altos destas razões (superior a 2) indicam a presença de resíduo de óleo já biodegradado. Valores baixos de pristano/n-C17 e fitano/n-C18 supõem ocorrência de óleo recentemente introduzido no ambiente (Colombo et al., 1989).

I.3.2.3. Mistura complexa não-resolvida (UCM)

A cromatografia é uma ferramenta essencial no estudo da composição do petróleo. Existem na composição do petróleo diversas substâncias que são difíceis de serem resolvidas por técnicas cromatográficas em coluna capilar.

Estas compõem a mistura complexa não-resolvida (UCM). A Figura 7 ilustra dois cromatogramas da fração alifática, o primeiro é de extrato de sedimento do mangue de Bertioga-SP, com a presença de UCM e o segundo sem a presença de UCM.

Figura 7: Cromatograma da fração alifática da região de mangue de Bertioga

Um dos indicadores mais convincentes da presença de petróleo degradado em amostra de sedimento é a presença desta mistura complexa não-resolvida (Volkman et al., 1992).

Estudos feitos por Gough & Rowland (1990), mostraram que, devido as suas estruturas, os compostos não resolvidos da UCM são resistentes à degradação, gerando o acúmulo destes compostos no ambiente.

UCM é composta de uma mistura de muitos isômeros e homólogos de estruturas complexas e de cadeias não-lineares (Bouloubassi & Saliot, 1993).

Utilizando técnicas de cromatografia em coluna e em camada delgada, Gough & Rowland (1990) isolaram alguns compostos da UCM de vários tipos de petróleos e derivados, chegando principalmente a hidrocarbonetos de cadeias alquiladas em forma de “T”, resistentes à degradação e que acumulam no sedimento.

Sendo característica de petróleos degradados, a UCM pode indicar o grau de intemperismo e biodegradação destes em sedimento marinho.

1.3.2.4. Biomarcadores de Petróleo (Alcanos Policíclicos)

Os compostos provenientes de organismos são depositados no sedimento e por diversos processos biogeoquímicos (diagênese) geram estruturas estáveis quimicamente. Por serem compostos derivados de diversos organismos antigos, estes “fósseis moleculares” recebem o nome de biomarcadores de petróleo (Wang & Fingas, 1997; Philp, 1985). Os biomarcadores de petróleo são caracterizados por suas ocorrências restritas, fontes específicas e estabilidade molecular.

Por muitos anos, pesquisadores de combustíveis fósseis têm utilizado compostos biomarcadores para identificar depósitos de petróleo no ambiente (Wang & Fingas, 1997).

Nas últimas décadas, os biomarcadores de petróleo tornaram-se importantes para estudos ambientais. Utilizados como “impressão digital” do óleo, estes compostos podem identificar a origem de um óleo derramado, tipo de óleo e monitorar o destino do óleo derramado no ambiente (Wang & Fingas, 1997). Estes compostos possuem vasta aplicação em análise de matéria orgânica em sedimentos antigos ou recentes contaminados por combustíveis fósseis (Aboul-Kassim & Simoneit, 1996).

Todas estas informações podem ser obtidas através das distribuições relativas dos compostos presentes na amostra investigada, bem como através de índices e razões obtidas com estas substâncias. Os biomarcadores de petróleo sugerem, portanto, a presença de petróleo no ambiente.

Dentre os principais biomarcadores utilizados na exploração dos estudos do petróleo estão os seguintes alcanos policíclicos: terpanos tricíclicos, terpanos tetracíclicos, triterpanos pentacíclicos (hopanos) e esteranos.

I.3.2.4.1. Terpanos Tricíclicos

Os terpanos tricíclicos (Figura 8) estão presentes em óleo bruto através de séries homólogas que pode variar entre C19 até C45 e desempenham um importante papel nos estudos geoquímicos de petróleo (Philp, 1985).

Estes compostos têm como característica, gerar como fragmento principal o íon m/z 191.

Figura 8: Estrutura do terpanos tricíclicos

A origem dos terpanos tricíclicos de cadeias curtas (C19 a C30) está associada com reações anaeróbicas de bactérias, sendo que alguns precursores foram sugeridos, como C30-hexaisoprenóide (seis unidades do isopreno) e ácidos carboxílicos tricíclicos (Philp, 1985).

Aquino Neto et al. (1983) investigou cerca de quarenta óleos diferentes e comprovou que todos continham terpanos tricíclicos, exceto os derivados de fontes terrestres, sugerindo a origem destes compostos de algas e bactérias aquáticas.

A ocorrência e distribuição relativa dos homólogos desta série em amostras de sedimento marinho são úteis para identificar a fonte de petróleo (Aboul-Kassim & Simoneit, 1996).

I.3.2.4.2. Terpanos Tetracíclicos

Outros terpanos importantes são os tetracíclicos (Figura 9). Os terpanos tetracíclicos estão amplamente distribuídos no petróleo bruto. Suas séries homólogas são menores que as dos tricíclicos, sendo observadas somente variações entre C24-C27 (Philp, 1985). Também podem gerar como fragmento principal o íon m/z 191.

Figura 9: Estrutura do terpanos tetracíclicos

Ainda segundo Philp (1985), os terpanos podem ser originados a partir da degradação dos triterpanos pentacíclicos do tipo hopano.

Como os tricíclicos, os terpanos tetracíclicos são bons indicadores de fonte do petróleo, através da comparação das suas concentrações relativas em diferentes áreas.

I.3.2.4.3. Triterpanos Pentacíclicos (Hopanos)

A classe de biomarcadores triterpanos que possui maior importância na investigação geoquímica do petróleo são os hopanos (Figura 10). Estes compostos apresentam extensa série de homólogos e mais de 150 hopanos individuais diferentes já foram isolados de vários tipos de matéria orgânica sedimentar (Philp, 1985).

Assim como os terpanos, esta classe de compostos também gera como fragmento principal o íon m/z 191.

Figura 10: Estrutura do terpanos pentacíclicos - hopanos

Os hopanos podem ser derivados de análogos oxigenados como o C35-bacteriohopanotetrol (Figura 11), precursor encontrado em diversos microorganismos como bactérias e cianobactérias (Volkman et al., 1997). Segundo Philp (1985), também pode ser encontrado em plantas superiores da ordem Filicales, como as pteridófitas.

Figura 11: Provável origem de triterpanos pentacíclicos, como os hopanos (Volkman et al., 1997)

As informações que podem ser obtidas dos hopanos derivam de análises das estruturas tridimensionais destes compostos. Cada estereoisômero das séries de homólogos dos hopanos possui origem específica e também dependem do grau de maturação do óleo presente no sedimento.

Uma série de homólogos de hopanos de C31 a C35, os homohopanos, estão presentes em amostras naturais, sintetizados por organismos vivos, e também em amostras de sedimento recentes ou maturados. Através desta série de homohopanos, pode-se determinar o grau de maturidade do óleo, bem como a principal fonte (Seifert & Moldowan, 1978; Philp, 1985; Volkman et al., 1997; Hauser et al., 1999).

Os homohopanos sintetizados por organismos vivos geralmente são estereoisômeros do tipo $17\beta(\text{H}), 21\beta(\text{H})$ e com configuração R no C22 (configuração 22R). Em amostras de petróleo e sedimentos antigos ocorrem conversões para gerar homohopanos de estruturas mais estáveis termodinamicamente, com configuração $17\alpha(\text{H}), 21\beta(\text{H})$ e epímeros 22R e 22S proporcionais (Volkman et al., 1997; Hauser et al., 1999).

Encontrados em menor escala, estão os moretanos, que possuem configuração $17\beta(\text{H}), 21\alpha(\text{H})$. A Figura 12 ilustra as configurações dos hopanos (Philp, 1985).

Figura 12 Exemplos das estruturas tridimensionais com configurações estereoquímicas $17(\text{H}), 21(\text{H})$ dos hopanos (Philp, 1985)

Através da relação existente entre os epímeros 22R e 22S da série de homohopanos, pode-se confirmar a presença de petróleo derramado. O índice homohopano, $\alpha, \beta \text{ S}/(\text{S}+\text{R})$, encontrar-se-á em equilíbrio (próximo a 0,50) se houver presença de petróleo, devido a proporcionalidade gerada entre estes epímeros $17\alpha(\text{H}), 21\beta(\text{H})$ 22S e $17\alpha(\text{H}), 21\beta(\text{H})$ 22R por amostras contendo petróleo (Bouloubassi & Saliot, 1993; Hauser et al., 1999; Jacquot et al., 1999).

Estes hopanos homólogos C31-C35 encontram-se freqüentemente em concentrações relativamente baixas. Porém, devido à boa resolução cromatográfica entre seus epímeros, o índice homohopano é freqüentemente utilizado e confiável (Hauser et al., 1999).

Além desta série de homohopanos, são freqüentemente encontrados em amostras contendo petróleo norhopanos C29 e hopanos C30 com configurações $17\alpha(\text{H}), 21\beta(\text{H})$ e $17\beta(\text{H}), 21\alpha(\text{H})$. Estes compostos geralmente encontram-se dominantes em amostras contendo petróleo rico em matéria orgânica terrestre (Hauser et al., 1999).

I.3.2.4.4. Esteranos

Os esteranos de C27 a C29 são os biomarcadores de petróleo com maior complexidade estereoquímica e, portanto possuem grande utilidade em aplicações geoquímicas. São compostos muito importantes em estudos de correlações para análise de petróleo, bem como indicadores de fonte do óleo.

Não ocorrendo em organismos vivos, estes compostos estão presentes no petróleo em menores concentrações que os terpanos e triterpanos (Philp, 1985).

Além dos esteranos regulares, existem esteranos rearranjados ou diasteranos (Figura 13 – respectivamente) presentes em combustíveis fósseis (Philp, 1985). Ambas as formas de esteranos geram como fragmento principal o íon m/z 217. Dependendo das variações estereoquímicas nas posições C13 e C14, pode ser formado como íon principal o fragmento com m/z 218.

Figura 13: Estrutura do esteranos regulares e esteranos rearranjados ou diasteranos

Os esteranos (Figura 14) são produtos da redução de misturas complexas de esteróis incorporados no sedimento, que ocorrem em plantas, animais e organismos. Estes esteróis produzem esteranos, que são muito instáveis. Os esteranos geram diasteranos por isomerizações ou rearranjos catalíticos. Reações de redução destes compostos insaturados produzem esteranos e diasteranos. (Philp, 1985; Volkman et al., 1997).

Figura 14: Origem de esteranos a partir da redução de esteróis (Volkman et al., 1997)

A complexidade da estrutura dos esteranos em amostras de sedimento é afetada principalmente pelas diferentes origens e variações estereoquímicas devido às diferenças de maturidade. Um grande número de estereoisômeros pode ser formado de cada esterano.

Durante a diagênese e maturação, os esteranos são convertidos a estruturas com configurações mais estáveis. As variações mais significantes ocorrem junto aos carbonos C5, C14, C17 e C20. Também pode haver isomerização na posição C24, mas estes isômeros não são bem resolvidos por cromatografia em fase gasosa. Para os diasteranos as modificações estereoquímicas mais significativas para a geoquímica ocorrem nas posições C13, C17 e C20 (Philp, 1985).

Os diasteranos possuem menos variações estruturais que os esteranos, tendo como principais isômeros os compostos $13\beta(\text{H})$, $17\alpha(\text{H})$ e menores quantidades de $13\alpha(\text{H})$, $17\beta(\text{H})$, ambos com quantidades proporcionais de 20R e 20S . A presença de diasteranos é característica de amostras de óleo maturado, devido a maior estabilidade destes esteranos rearranjados. (Philp, 1985).

Durante a conversão de esteranos em esteranos são produzidas inicialmente misturas de isômeros $5\alpha(\text{H})$ (80%) e $5\beta(\text{H})$ (20%) que, posteriormente, mantém a configuração $5\alpha(\text{H})$. O aumento da concentração relativa do isômero $5\alpha(\text{H})$ e a diminuição do $5\beta(\text{H})$ indica maior maturação, devido a menor estabilidade dos isômeros $5\beta(\text{H})$ (Philp, 1985).

Com o aumento da maturidade, ocorrem interconversões estereoquímicas entre os esteranos, como de 20R para 20S e de

14 α (H),17 α (H) para 14 β (H),17 β (H) até que um equilíbrio entre as abundâncias destes estereoisômeros seja estabelecido (Hauser et al., 1999).

As razões entre estes estereoisômeros proporcionam informações sobre grau de maturação relativa e origem do óleo presente na amostra de sedimento. Geralmente estes cálculos são feitos com os C29 esteranos (24-etil-colestano) pois, diferentemente dos C27 esteranos (colestano) e C28 esteranos (24-metil-colestano), estes não se apresentam co-eluidos com outros isômeros (Philp, 1985). A co-eluição de isômeros ou de esteranos/diasteranos ocorrem com maior frequência em amostras contendo petróleo maturo.

Exemplos das configurações estereoquímicas dos esteranos encontram-se ilustrados na Figura 15.

Figura 15: Configurações estereoquímicas 5(H),14(H),17(H), C20 para os esteranos

A identificação da origem do petróleo pode ser feita com a quantificação relativa dos homólogos esteranos C27, C28 e C29 e a comparação das distribuições destes esteranos. De acordo com Jacquot et al. (1999) predominância de C27-esteranos caracteriza petróleo de origem principalmente marinha e C29-esteranos é característica de petróleo com origem predominante de plantas superiores.

I.3.2.5. Compostos Policíclicos Aromáticos (CPAs)

Os compostos policíclicos aromáticos (CPAs) são compostos com dois ou mais anéis benzênicos condensados. São moléculas com volatilidade e solubilidade em água relativamente baixas (Munoz et al., 1997).

Os CPAs têm recebido atenção especial em amostras de sedimento marinho devido sua ação tóxica prejudicial para o ambiente (Bouloubassi & Saliot, 1993). Estes compostos aromáticos são potenciais responsáveis por diversos tipos de câncer em peixes (Baumann, 1989), entre outros efeitos biológicos e ecológicos (Moore et al., 1989) no ambiente marinho.

Desta forma, o conhecimento de suas fontes e os estudos da distribuição e do comportamento destes compostos no ambiente, são indispensáveis para um melhor monitoramento das atividades antrópicas.

Assim como os demais hidrocarbonetos marcadores geoquímicos, conhecendo-se a distribuição dos compostos presentes em amostras, bem como os detalhes da estrutura molecular de cada CPA, pode-se determinar fontes específicas predominante e o destino destes compostos no ambiente.

As características estruturais também podem fornecer informações quanto ao nível de degradação dos compostos na amostra. O grau de alquilação é inversamente proporcional a taxa de degradação. Do mesmo modo, quanto menor o número de anéis na estrutura, mais rapidamente o composto é degradado (Wang & Fingas, 1997).

Os principais CPAs investigados são compostos formados com 2 até 6 anéis, vários homólogos alquilados, além de compostos S-heterocíclicos como benzotiofenos, dibenzotiofenos e seus respectivos homólogos alquilsubstituídos.

A Figura 16 ilustra a estrutura dos CPAs de maior ocorrência em sedimento marinho analisados neste trabalho e seus respectivos nomes segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry).

Figura 16: Estruturas e nomenclatura IUPAC dos CPAs mais freqüentes nos sedimentos (Silva, 2005)

Historicamente, adições mais significativas desta classe de hidrocarbonetos começaram a ocorrer juntamente com o desenvolvimento industrial e conseqüente aumento do uso de combustíveis fósseis, confirmando a relevância de suas fontes antrópicas (Wakeham, 1996).

Entre as fontes predominantes de CPAs no ambiente marinho estão as fontes antrópicas, como descargas industriais e urbanas, derrames de petróleo e, principalmente, a queima de combustíveis fósseis e seus derivados. Com menores contribuições estão as fontes naturais, como a combustão da biomassa vegetal e a diagênese de precursores naturais (Bouloubassi & Saliot, 1993; Law & Biscaya, 1994; Wang et al., 1999).

I.3.2.5.1. CPAs de origem petrogênica

Os CPAs característicos e mais abundantes de origem petrogênica são os mono-, bi- e tricíclicos, com presença significativa dos homólogos alquilados. Os aromáticos S-heterocíclicos, como benztiofenos e dibenztiofenos também são encontrados em óleo bruto. (Wang & Fingas, 1997; Wang et al., 1999). Sob condições de baixas temperaturas e quase constantes, na qual é formado o petróleo, as estruturas alquiladas são produzidas.

Os compostos aromáticos investigados que mais se pronunciam em presença de fonte predominantemente petrogênica são: naftalenos, fluorenos, benztiofenos e dibenztiofenos, antracenos e fenantrenos, todos com seus respectivos homólogos alquilados (metil, dimetil ou etil, trimetil e tetrametil).

Com o aumento do grau de degradação também ocorrem perdas de CPAs de origem petrogênica de baixo peso molecular por evaporação e dissolução (Bouloubassi, 1990; Wang et al., 1999).

Os CPAs de fontes petrogênicas são introduzidos no ambiente aquático principalmente através de emulsão, aumentando a área superficial e facilitando a degradação por microorganismos. Já os de origem pirolítica não sofrem ou estão menos suscetíveis a estas degradações (Bouloubassi & Saliot, 1993).

O interesse sobre o destino e os efeitos dos CPAs no ambiente marinho ocorre devido a sua potencial toxicidade para organismos, que podem

bioacumulá-los e sofrer efeitos mutagênicos e carcinogênicos (Giessing et al., 2003; IARC, 1983; Larsen, 1995). Existe ainda um interesse adicional sobre estes CPAs, devido a sua transferência do meio abiótico (sedimento) para o biótico e posterior transferência trófica destes compostos e seus produtos de biotransformação (Giessing et al., 2003; Menzie et al., 1992).

Durante a última década, muitos estudos têm monitorado as introduções, fluxos e destinos de CPAs no ambiente marinho, concentrando as análises principalmente nos sedimentos (Bouloubassi & Saliot, 1993; Law & Biscaya, 1994; Wang & Fingas, 1997; Wang et al., 1999). Entretanto, para avaliar o estado do ecossistema marinho, é necessário conhecer a fração destes compostos que pode estar disponível para a biota aquática (Escartín & Porte, 1999).

Estes compostos aromáticos são inicialmente associados a partículas em suspensão e posteriormente acumulados nos sedimentos (McElroy et al., 1989), que atuam como depósitos alimentares para diversas espécies de organismos bênticos e peixes demersais. A determinação de CPAs em amostras de sedimento auxilia no monitoramento do ambiente marinho.

I.3.2.5.2. CPAs de origem natural

As fontes naturais de hidrocarbonetos fósseis, como afloramento de petróleo pelo assoalho marinho, erosão de sedimentos e rochas antigas e erupções vulcânicas, não apresentam um aporte significativo de CPAs nos sedimentos marinhos recentes (Wakeham et al., 1980 apud Figueiredo, 1999).

Conseqüentemente, os estudos sobre a importância da diagênese de precursores biogênicos na origem de CPAs naturais em sedimentos recentes tornam-se importantes (Bouloubassi, 1990; Law & Biscaya, 1994).

Laflamme & Hites (1978) encontraram CPAs naturais em amostras de sedimentos, como o reteno (1-metil-7-isopropil-fenantreno), um derivado de compostos diterpenóides proveniente do ácido abiético encontrado em coníferas, e o perileno.

O CPA de origem natural mais abundante em amostras de sedimento, juntamente com derivados de compostos diterpenóides e compostos

triterpenóides pentacíclicos, é o perileno (Wakeham et al., 1980 apud Figueiredo, 1999).

O perileno é um CPA encontrado nos sedimentos redutores. Uma hipótese para sua origem é através das reações de redução de pigmentos como 4,9-dihidroxiperileno-3,10-quinona e outras quinonas de alto peso molecular. Estes pigmentos, encontrados em insetos, fungos e plantas, são sensíveis à oxidação e a transformação destes em perileno requer rápida sedimentação e ambiente redutor (Laflamme & Hites, 1978; Venkatesan, 1988).

Foram encontradas significativas concentrações de perileno em sedimentos sob as mesmas condições redutoras, porém com matéria orgânica somente marinha. Isso leva a propostas de origem marinha para o perileno (Venkatesan, 1988).

Fontes antrópicas também foram detectadas por Blumer et al., (1977 apud Venkatesan, 1988) através das emissões de: produtos da destilação de carvão mineral (coque), queima de carvão, gases e aerossóis não-tratados de refinarias de petróleo, gases e aerossóis de incineradores municipais, combustão de querosene e carbonização de alcatrão (produzido por destilação de madeira ou carvão mineral).

A alta concentração de perileno em relação ao total de CPAs não substituídos (superior a 10%), sugere uma predominância na contribuição de origem diagenética (Colombo, 1989).

I.3.3) Degradação do Petróleo

Uma vez introduzido no ambiente marinho, o petróleo fica sujeito a uma série de processos físicos, químicos e biológicos. Isso pode acarretar tanto a sua dispersão no meio como alterações em suas características físicas e químicas.

Em um primeiro estágio, o óleo espalha-se na superfície da água e é transportado pelo vento e pelas correntes. Os componentes de baixo ponto de ebulição evaporam e os restantes podem ao mesmo tempo ser absorvidos e oxidados, além de serem submetidos à degradação biológica.

Parte do volume é emulsificado formando o chamado “mousse de chocolate”. Esse mousse também pode transformar-se em massas sólidas resultando em bolas de piche.

Parte do óleo pode ser dispersado pela coluna d’água em pequenas partículas que são absorvidas pelo material particulado deslocando-se para o fundo ou ainda podem ser incorporadas por organismos sendo sedimentadas junto com pelotas fecais ou organismos mortos.

O processo predominante será variável com o tempo e a natureza da exposição. A cinética dos processos que ocorrem são dependentes do peso molecular, estrutura dos compostos e ainda das condições climáticas e do ambiente afetado (IP, 1974).

A evaporação pode produzir mudanças em horas, dias, semanas ou meses e provavelmente ocorre antes da oxidação, dissolução e ataque biológico. A evaporação é também o processo de maior efeito (IP, 1974).

Segundo NAS (1975) a evaporação pode remover sozinha até 50% dos hidrocarbonetos de um óleo na superfície dos oceanos.

No entanto, todos os processos podem ser completamente diferentes quando os derrames ocorrem nas proximidades da linha de costa.

A remoção natural do óleo vai depender, entre outros fatores, da dinâmica de cada ambiente.

Ambientes de baixa energia contêm sedimentos finos com alto teor de matéria orgânica e são freqüentemente anaeróbicos. Portanto, são ambientes redutores onde a degradação microbiológica é bastante reduzida, a erosão quase não existe e a atuação da maré tem uma contribuição muito pequena. Assim sendo, mesmo uma pequena quantidade de óleo pode persistir nestes ambientes por décadas (Gunkel e Gassmann, 1980).

Ambientes de alta energia, por outro lado, são aeróbicos e continuamente retrabalhados, onde o óleo pode ser misturado com o material inorgânico para ser deslocado. Assim, pode migrar através do sedimento ou ser distribuído para água. Nesse caso, o óleo tende a permanecer por menores períodos de tempo.

A incorporação de hidrocarbonetos no sedimento pode conduzir a uma permanência dos mesmos por vários anos em áreas localizadas, com a possibilidade de provocar efeitos sub-letais e acúmulo em espécies comerciais

(ITOPF, 1987), causando efeitos a longo prazo nas populações e comunidades locais.

Os sedimentos servem como substrato para organismos bênticos, que são fontes de alimentação para muitos peixes. Pode-se considerar o sedimento, juntamente com a coluna d'água, como os principais compartimentos constituintes de qualquer ecossistema aquático. Desta forma, se um destes compartimentos é alterado, pode haver um comprometimento de todo o sistema biológico.

Assim, os esforços de investigação sobre a origem, distribuição, gradiente de dispersão e comportamento dos hidrocarbonetos no ambiente marinho é de fundamental importância. Neste sentido, os estudos podem ser baseados em investigações na coluna d'água, nos sedimentos e nos organismos marinhos. Particularmente, os sedimentos têm despertado maior atenção por se apresentarem como um compartimento natural de deposição e acumulação destes compostos e ter um importante papel biológico para o meio marinho.

1.3.4) Petróleo no mangue

A presença de petróleo nos manguezais, devido a derramamentos, é frequente (Getter et al. 1981), ficando a flora e fauna desses ecossistemas vulneráveis ao óleo, devido principalmente à facilidade de sua acumulação no solo (Scherrer & Mille, 1989). As condições de inundação e as características da vegetação, com suas raízes abundantes, formando uma malha superficial, dificultam o acesso às regiões atingidas (NOAA, 1996).

Após a entrada no ambiente, o petróleo sofre alterações de suas características originais, devido a fatores físicos (evaporação, dissolução, dispersão, oxidação fotoquímica, adsorção de partículas, etc) e principalmente biológicos (biodegradação) (Sloan, 1999). As transformações físicas e biológicas são reguladas pelas características específicas do derramamento e do ambiente atingido. Assim, o grau de impacto ambiental e persistência do petróleo no ambiente dependem de fatores como: habitat atingido, tipo e quantidade do óleo derramado, espécies de organismos atingidos, época do

ano (pode afetar o ciclo de vida das espécies), condições hidrográficas e meteorológicas (pode afetar a dispersão do petróleo), clima, frequência e duração da exposição ao petróleo e práticas utilizadas na tentativa de eliminação do petróleo (Sloan, 1999).

Óleo que estava sendo conduzido pelo oleoduto da PETROBRÁS no derramamento era do tipo Carmópolis; razoavelmente pesado – com densidade a 20° C igual a 0,9050 e classificado, segundo o A.P.I., como igual a 24,2 (Novelli, 1986).

Alguns métodos de medição podem ser utilizados para a avaliação do impacto causado pela presença de petróleo no mangue, entre eles: porcentagem de árvores vivas e mortas em um transecto ou quadrante, abundância e diversidade de espécies arbóreas, densidade e condição das sementes produzidas, estimativa da biomassa vegetal e observação da fauna dominante no solo de mangue (Michel, 2002).

O petróleo e seus derivados podem persistir por mais de 20 anos nos manguezais, antes que a vegetação se recupere totalmente (Michel, 2002). Esta alta persistência é explicada pela lenta biodegradação dos hidrocarbonetos de petróleo, devido à limitação de oxigenação do meio e lenta ciclagem dos nutrientes, essenciais para a atividade microbiana aeróbia (Scherrer & Mine, 1989). A persistência dos hidrocarbonetos depende também da exposição do sítio aos fluxos de água marinha, influenciados pelas marés. A maior frequência de exposição a estes fluxos pode acelerar a remoção dos hidrocarbonetos, contribuindo para a recuperação da vegetação (Michel, 2002).

Os efeitos tóxicos imediatos do petróleo tendem a ser causados principalmente por moléculas de baixa massa molecular e que se degradam mais rapidamente. Já os efeitos tóxicos crônicos são devidos às moléculas de alta massa molecular, geralmente aromáticas, que apresentam menor toxicidade, mas são persistentes, causando efeitos mais duradouros (Spies et al., 1996). Clark & Finley (1982) consideram os efeitos crônicos mais significativos do que os efeitos imediatos. Pequenas quantidades de petróleo podem ter efeitos de longo prazo na diminuição da diversidade de espécies em um sistema (Howarth, 1991; Nelson-Smith, 1982). A diminuição da diversidade de espécies vegetais e de invertebrados marinhos em um meio contendo petróleo é causada principalmente por efeitos fisiológicos, carcinogênicos e

citogenéticos de longo prazo, alterando a reprodução, crescimento, respiração, movimentação e susceptibilidade a doenças (Suchanek, 1993).

Os efeitos crônicos são de difícil diagnóstico, devido à dificuldade de quantificar a exposição do ambiente ao petróleo e da dinâmica da recuperação poderem mascarar esses efeitos (Bienert & Pearson, 1995; Spies et al., 1996; Bue et al., 1998).

Foi observado que plantas de mangue diminuíram drasticamente a produção de sementes durante 17 meses após um derramamento de petróleo no Sudeste da Austrália (Clarke & Ward, 1994). Já em outras regiões, a presença do óleo exerceu impacto negativo sobre a vegetação durante 17 anos (Baker et al., 1993).

O conhecimento da capacidade de recuperação de ecossistemas impactados passa pelo estudo das suas características físico-químicas e biológicas, assim como de suas interações com os componentes antropogênicos.

Muitos microrganismos são capazes de degradar os hidrocarbonetos do petróleo. Alguns são degradadores de alcanos, outros de aromáticos e alguns conseguem metabolizar ambos (Atlas, 1981; Leahy & Colwell, 1990; Atlas & Bartha, 1992). Alcanos n-C10 a n-C26 são mais facilmente degradados. Entre os aromáticos, os de baixa massa molecular como o benzeno, tolueno e xileno, que estão entre os componentes tóxicos do petróleo, são facilmente degradados pelos microrganismos marinhos. Moléculas com estruturas mais complexas, contendo ramificações e anéis aromáticos são degradados por um número menor de microrganismos e com uma taxa de degradação menor, se comparadas com moléculas de estrutura mais simples.

O petróleo cru no ambiente nunca é completamente degradado, sempre persistindo resíduos mais complexos, geralmente contendo compostos asfálticos, os quais são mais inertes, possuem baixa disponibilidade e toxicidade e não apresentam grandes riscos ecológicos aparentes (Atlas, 1995).

Os microrganismos capazes de degradar hidrocarbonetos do petróleo estão largamente distribuídos pelos oceanos. Vários gêneros de bactérias presentes no mar são responsáveis pela degradação do petróleo (Floodgate, 1995). Apesar da importância destes microrganismos para a restauração do

ecossistema, os estudos das bactérias marinhas em ambientes contendo óleo são escassos (Sloan, 1999). Várias espécies de *Pseudomonas*, que utilizam normalmente hidrocarbonetos produzidos por plantas, algas e outros organismos, estão entre estes potenciais degradadores de hidrocarbonetos do petróleo (Atlas, 1995). Segundo Braddock et al. (1996), as populações de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos em sedimentos marinhos com petróleo são maiores do que nos sem petróleo. Quando um ambiente marinho possui petróleo, a proporção de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos aumenta rapidamente, com dominância de populações de bactérias que contêm plasmídeos com genes para a degradação de hidrocarbonetos (Atlas, 1995). A proporção destes microrganismos aumenta em menos de 1%, em ambientes marinhos sem petróleos, para mais de 10%, em ambientes marinhos com petróleo (Atlas, 1981).

A biodegradação dos hidrocarbonetos do petróleo se inicia com a oxidação do substrato por oxidases, em condições aeróbias. Os alcanos são transformados em ácidos carboxílicos, os quais são também metabolizados pelos microrganismos. Os compostos aromáticos são geralmente hidroxilados, formando dióis, os quais são degradados a catecóis, e esses são posteriormente também metabolizados. Alguns fungos podem produzir formas carcinogênicas de catecóis, mas como o ambiente marinho é dominado por bactérias, a mineralização dos hidrocarbonetos não produz metabólitos tóxicos.

Em ambientes marinhos, a biodegradação dos hidrocarbonetos do petróleo é geralmente limitada pelas baixas concentrações de oxigênio, fosfato e nitrogênio. Nos ambientes com alta energia (e.g. encostas rochosas), os nutrientes P e N são os fatores mais limitantes. Já nos ambientes com baixa energia (mangues), onde normalmente não há limitação de P e N, a taxa de biodegradação é limitada pela anoxia, resultando em prolongada persistência do petróleo. (Atlas, 1995; Teal et al, 1992).

II - OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal avaliar a importância das análises químicas como instrumento jurídico em caso de derrames de petróleo em um estudo de caso.

Objetivos específicos

Avaliar qualitativamente e quantitativamente os n-alcanos, os alcanos isoprenóides, os biomarcadores de petróleo (terpanos, hopanos e esteranos) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) em análises de sedimentos do mangue atingido pelo derrame de petróleo em 14 de outubro de 1983 causado pelo rompimento do oleoduto em Bertioga.

Fazer uma comparação entre as composições original do óleo e as amostras depois de vários anos levando em considerações ao problema de degradação.

III - ÁREA DE ESTUDO

III.1) O Canal de Bertioga

A área de estudo está localizada no Canal de Bertioga, no Estado de São Paulo – Brasil (Figura 17). O local está compreendido entre a Estrada Rio-Santos – 93 Km (SP-055) e o Canal de Bertioga, conforme ilustram a Figura 18 e Figura 19. Está compreendida entre $46^{\circ}12'28''$ e $46^{\circ}12'29''$ de Longitude Oeste e $23^{\circ}53'49''$ e $23^{\circ}53'43''$ de Latitude Sul (Tabela 1 e Figura 20)

Figura 17: Localização de Bertioga, litoral do Estado São Paulo.

Figura 18: Localização de Bertioga, litoral do Estado São Paulo (IGC, 2003)

Figura 19: Localização do Rio Irii. Mapa base: IGC –SP (1988). Limite interno do manguezal traçado por Machado (1992)

Tabela 1: Delimitação da Área de Estudo

	Latitude	Longitude
A	46° 12'29" W	23° 53'43" S
B	46° 12'28" W	23° 53'43" S
C	46° 12'29" W	23° 53'49" S
D	46° 12'28" W	23° 53'49" S

Figura 20: Foto aérea da delimitação da área de Estudo (1988).

III.1.1) Geologia

A área de trabalho corresponde a sedimentos quaternários marinhos depositados sobre pré-cambrianas do complexo Paraíba do Sul. Trata-se de ambientes sedimentares relacionados principalmente as fases de progradação costeira holocênica (IPT, 1988). O regime fluvial, as ações marinhas e o comportamento tectônico foram os fatores fundamentais que influenciaram nessa deposição (Brasil, 1983).

III.1.2) Clima

O clima que caracteriza grande parte do litoral, segundo a classificação de Koppen, é do tipo tropical, com temperaturas médias do mês mais quente superior a 18°C, a precipitação anual varia de 1600 a 2000 mm; não apresenta estação seca invernal, apenas diminuição de pluviosidade, enquanto os verões são excessivamente úmidos (Rossi, 1999).

III.1.3) Relevo

A área apresenta relevo de agradação, litorâneo e planície costeira, relacionado às planícies de restinga e às planícies marinha, fluvial e intertidal (mangues; são terrenos baixos mais ou menos planos, próximos ao nível do mar, com baixa densidade de drenagem e padrão meandrante, localmente anastomosado; como formas subordinadas, ocorrem cordões de praias, dunas, etc. (Rossi, 1999).

IV - MATERIAIS E MÉTODOS

IV.1) Coleta de amostras de sedimento

Foram feitas análises de sedimentos em duas ocasiões.

Uma coleta foi realizada em 2001, pelo grupo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo. Este trabalho foi realizado pelo grupo do Prof. Dr. Pablo Vidal-Torrado em 30 pontos, numerados de P1 à P30 para o desenvolvimento da dissertação de mestrado de Raiza María Prada Gamero. No presente trabalho foram usados três pontos.

Em 2005, foram repetidos três pontos. Neste trabalho estavam presentes a Profa. Dra. Márcia Caruso Bicego (Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, IO-USP), Mauricio Antonio Covre Coimbra (IO-USP), Gisele Lopes Nunes (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, ESALQ-USP) e Dorival (ESALQ-USP).

Nesses três pontos foram coletados três testemunhos, um testemunho no Ponto 01 – próximo às margens do Rio Iriri, um no testemunho no Ponto 02 – intermediário ao Ponto 01 e ao Ponto 03 e um testemunho no Ponto 03 – próximo ao local do derramamento. Os locais destes pontos estão apresentados na Figura 21. Nestes testemunhos foram realizadas sub-amostragens a cada 10 cm, sendo selecionadas algumas das sub-amostragens indicadas na Tabela 2.

Tabela 2: Tabela de sub-amostragens analisadas em 2005 e 2001

		PONTOS		
		P1 (Ponto 01)	P2 (Ponto 02)	P3 (Ponto 03)
Profundidade	00 (0,00 - 0,10m)	P1-00	P2-00	P3-00
	20 (0,20 - 0,30m)	P1-20	P2-20	P3-20
	40 (0,40 - 0,50m)	P1-40	P2-40	P3-40

Após serem embaladas, as amostras foram colocadas em recipiente isolante com gelo e, posteriormente armazenadas em um “freezer”, onde

ficaram congeladas (aproximadamente -15°C) para posterior liofilização e análise em laboratório.

O óleo de petróleo original presente no derramamento fornecido pela Prof^a Dra Yara Schaeffer-Novelli, também foi analisado.

Figura 21: Localização dos testemunhos no mangue.

IV.2) Análises de Amostras de Sedimento e no Petróleo

Todos os tratamentos dados aos reagentes, vidrarias e gases e a metodologia de análise de sedimento e petróleo (UNEP, 1991) utilizada são procedimentos de rotina do Laboratório de Química Orgânica Marinha do Instituto Oceanográfico da USP.

IV.2.1) Vidraria, Reagentes e Gases

Todas as vidrarias utilizadas foram tratadas com detergente Extran alcalino da Merck, enxaguadas com água destilada e seca em estufa, exceto material volumétrico que foi seco a temperatura ambiente. Antes do uso, cada vidraria foi lavada com n-hexano e diclorometano, ambos com grau resíduo de pureza. Todos os balões volumétricos utilizados na preparação de soluções de padrões tiveram seus volumes aferidos.

A água utilizada para desativar a sílica e a alumina foi purificado com equipamento Milli-q e extraída cinco vezes com n-hexano, eliminando possíveis compostos interferentes.

Os adsorventes utilizados – sílica, alumina e sulfato de sódio – foram aquecidos em mufla a 400°C por 4 horas, para eliminar impurezas orgânicas, e armazenados em dessecadores sob vácuo. Antes do uso, foram colocados em estufa a 160°C por 2 horas para eliminar possível umidade. Após esfriar em dessecador sob vácuo, foram adicionados 5% (em massa) de água destilada (extraída em n-hexano) para desativar a sílica e a alumina e agitados vigorosamente. Ambos os adsorventes ficaram em repouso, em dessecador sob vácuo, por cerca de 24 horas até o momento do uso.

Os fios de cobre, utilizados na extração do sedimento, foram ativados em ácido clorídrico 3M por alguns minutos e, posteriormente lavados com água destilada, álcool, acetona e n-hexano. Os mesmos permaneceram em n-hexano até o momento do uso.

Todos os gases utilizados nas análises cromatográficas tinham alto grau de pureza (99,999%) e ainda passavam por um sistema de filtros antes de entrar nos cromatógrafos (injetores, colunas e detectores), para eliminar possíveis presenças de O₂ e umidade.

IV.2.2) Análise de Hidrocarbonetos em Sedimento e no Petróleo

As bandejas de alumínio contendo as amostras foram colocadas em um liofilizador por 5 dias até a secagem. O sedimento foi macerado em almofariz de porcelana.

Vinte gramas do sedimento foram extraídos em Soxhlet com 80 mL de mistura n-hexano/diclorometano 50% por 8 horas. Junto à mistura de solventes, foram adicionados fios de cobre ativados para eliminar possíveis derivados de enxofre contidos nas amostras, que poderiam interferir nas análises cromatográficas. Ao sedimento foram adicionados 5.000ng de uma mistura de hexadeceno e eicoseno e 400 ng de uma mistura de aromáticos deuterados (naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d12), como padrões internos “surrogates” (PI) para os n-alcanos e CPAs, respectivamente.

Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo a vácuo até 2 mL para a purificação e separação por cromatografia em coluna.

A cromatografia em coluna foi efetuada em coluna de vidro de 0,7cm de diâmetro interno por 39 cm de altura. Nesta coluna foi adicionada lã de vidro para auxiliar na retenção do material sólido, 3,2g de sílica gel (granulometria de 0,063 – 0,200mm) 5% desativada, 1,8g de alumina (Al_2O_3 com granulometria de 0,063 – 0,200mm) 5% desativada e sulfato de sódio anidro.

O extrato de 2 mL foi eluído, inicialmente, com 10 mL de n-hexano, obtendo-se a fração que continha os n-alcanos e alcanos isoprenóides (fração F1). Posteriormente, eluiu-se com 15 mL de mistura de n-hexano contendo 30% (em volume) de diclorometano, obtendo-se a fração que continha os CPAs (fração F2).

As frações finais foram concentradas em evaporador rotativo a vácuo até cerca de 1 mL e transferidas para ampolas de vidro âmbar previamente aquecidas em mufla por 4 horas a 400°C, rotuladas e aferidas em 1 mL. Como padrões internos cromatográficos (PIC) para n-alcanos e CPAs foram adicionados 5000 ng de tetradeceno nas ampolas das frações F1 e 400 ng de 9,10-dihidroantraceno nas ampolas das frações F2, respectivamente. A solução final foi evaporada com fluxo de nitrogênio suave até 1 mL. As ampolas foram

fechadas e abertas somente no momento da injeção das amostras nos cromatógrafos.

Juntamente com cada grupo de extrações contendo 8 amostras, foi feita uma extração de amostra denominada “branco” para controle de cada extração, contendo sulfato de sódio no lugar da amostra de sedimento.

O procedimento para análise do petróleo, foi basicamente o mesmo, a partir de uma solução com 10 mg de óleo em 10 mL que foi eluído na coluna de sílica e alumina. A Figura 22 ilustra o esquema do processo.

Figura 22: Fluxograma da extração e análise de hidrocarbonetos em sedimento e no petróleo

IV.2.3) Condições e Análises Cromatográficas

IV.2.3.1. Análise dos n-alcenos e dos alcenos isoprenóides

Para a análise dos n-alcenos e alcenos isoprenóides foi utilizado um cromatógrafo a gás Hewlett Packard (modelo HP 6890) equipado com detector de ionização de chama (GC-FID). Foram injetados 2,0µL do extrato final da fração F1 e esta alíquota foi eluída em coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25mm de diâmetro interno, revestida com filme de 0,25µm de 5% fenil – 95% metilsiloxano. O modo de injeção utilizado foi “splitless”. O gás utilizado como fase móvel foi o H₂ a um fluxo de 1,2 mL.min⁻¹ (150°C). A chama do detector foi composta por fluxo de 350 mL.min⁻¹ de ar sintético, 30 mL.min⁻¹ de H₂ e 30 mL.min⁻¹ de N₂ como gás auxiliar. A rampa de temperatura para separação e análise dos compostos, bem como outras condições cromatográficas são apresentadas na Figura 23.

Figura 23: Rampa de aquecimento e condições para análise dos n-alcenos e isoprenóides

A calibração dos compostos foi obtida utilizando uma curva contendo seis pontos de diferentes concentrações de padrões externos (n-C12, n-C14, n-C16, n-C17, n-C18, n-C20, n-C21, n-C22, n-C23, n-C24, n-C25, n-C26, n-C28, n-C30, n-C32, n-C34 e pristano), obtendo-se um coeficiente de correlação superior a 0,995 para todos os compostos.

A identificação dos compostos analisados (n-C12 – n-C34, pristano e fitano) foi feita através da comparação dos tempos de retenção dos

cromatogramas das amostras com cromatograma contendo os padrões externos. Para a identificação de alguns n-C-ímpares e do fitano, que não havia na mistura de padrões, foi injetada uma amostra de óleo bruto pesado diluído a $100 \text{ ng.}\mu\text{L}^{-1}$ que possuía toda a série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos analisada.

A quantificação dos compostos foi feita pela comparação do fator de resposta dos compostos em relação ao hexadeceno e ao eicoseno (padrões internos). Já a quantificação dos compostos que não estavam presentes na mistura de padrões externos, utilizou-se o fator de resposta dos compostos quimicamente mais semelhantes. Para avaliar a recuperação da metodologia, foi utilizada a comparação dos padrões internos com o tetradeceno (padrão interno cromatográfico), adicionado ao extrato no final do procedimento.

IV.2.3.2. Análise dos Biomarcadores de Petróleo

Para resolver, identificar e quantificar os biomarcadores analisados – terpanos ($m/z = 191$), hopanos ($m/z = 191$) e esteranos ($m/z = 217$ e 218) – utilizou-se um cromatógrafo a gás Agilent 6890 acoplado com um espectrômetro de massas Agilent 5973 de impacto de elétrons (GC-MS). Foi injetado $1,0\mu\text{L}$ do extrato da fração F1, em modo “splitless”, e esse volume foi eluído em coluna capilar de 50 m de comprimento e 0,32mm de diâmetro interno, revestida com filme de $0,17\mu\text{m}$ de 5% fenil – 95% metilsiloxano.

Um fluxo de $1,8\text{mL.min}^{-1}$ de He foi utilizado como fase móvel. A temperatura do injetor era de 280°C . A rampa de temperatura utilizada para a resolução desta classe de compostos bem como as condições cromatográficas estão apresentada na Figura 24.

Pelo fato de não haver padrões comerciais para estes tipos de compostos, não foi possível a obtenção de uma curva de calibração para os biomarcadores de petróleo. Por esse mesmo motivo, os biomarcadores de petróleo analisados foram identificados através dos espectros de massa de cada composto e comparados com os espectros de Philp (1985), e outros cromatogramas em Hauser et al. (1999) e Aboul-Kassim & Simoneit (1996). A quantificação se procedeu através de uma relação direta entre a área do

eicoseno (utilizado como padrão interno para estes compostos) e a área de cada composto.

Figura 24: Rampa de aquecimento e condições para análise dos biomarcadores de petróleo e CPAs

IV.2.3.3. Análise dos Compostos Policíclicos Aromáticos

A análise dos CPAs foi feita em um cromatógrafo a gás Agilent modelo 6890 acoplado a um espectrômetro de massa Agilent 5973. Foi injetado 1,0μL do extrato final da fração F2 de cada amostra e esse volume foi eluído em coluna capilar de 50 m de comprimento e 0,32mm de diâmetro interno, revestida com filme de 0,17μm de 5% fenil – 95% metilsiloxano. O modo de injeção foi “splitless”.

Utilizou-se He com fluxo de 1,8mL.min⁻¹ como fase móvel. A temperatura do injetor era de 280°C. A calibração dos CPAs foi obtida utilizando uma curva de seis pontos de diferentes concentrações de solução contendo mistura de compostos aromáticos utilizados como padrões externos (Naftaleno, 2-Metilnaftaleno, 1-Metilnaftaleno, Bifenil, 2,6-Dimetilnaftaleno, Acenaftileno, Acenafteno, Trimetilnaftaleno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, 1-Metilfenantreno, Fluoranteno, Pireno, Benzo(a)antraceno, Criseno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(e)pireno, Benzo(a)pireno, Perileno, Indeno[1,2,3-c,d]pireno, Dibenzo(a,h)antraceno e Benzo(g,h,i)perileno). Obtendo-se um coeficiente de correlação superior a 0,99 para todos os compostos.

A identificação dos CPAs foi feita através de comparação dos tempos de retenção dos picos nos cromatogramas das amostras com a mistura de

padrões externos injetados e confirmados através da análise dos seus respectivos espectros de massa.

Além dos compostos dos padrões internos, foram acrescentados na lista de compostos calibrados outros metilados, que não estavam presentes na mistura de padrões. A inserção destes na lista de compostos calibrados foi feita mantendo-se os mesmos dados obtidos com a calibração das moléculas quimicamente mais semelhantes que estavam presentes na mistura de padrões externos e a identificação dos novos compostos aromáticos foi feita através dos espectros de massa.

Para quantificar os CPAs analisados, fez-se a comparação dos fatores de resposta dos compostos calibrados com os fatores de resposta de cinco compostos aromáticos deuterados, utilizados como padrões internos (naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d12). A recuperação do método foi avaliada através da comparação dos padrões internos com o 9,10-dihidroantraceno (padrão interno cromatográfico), adicionado ao extrato no final do procedimento.

IV.2.3.4. Controle das Análise de Sedimento

IV.2.3.4.1. Análise do “Branco” (controle das extrações)

Acompanhando todas as seqüências de extrações, foi feita uma amostra “branco” para controle de cada seqüência (8 amostras) durante todo o processo de laboratório, a fim de controlar interferentes nas amostras durante qualquer e toda manipulação laboratorial. Esta amostra era composta somente de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) previamente muflado e, antes do uso, seco em estufa a 160°C por 2 horas. As concentrações encontradas nos “brancos” foram descontadas de todas as amostras de sua respectiva seqüência. Cinco “brancos” foram realizados em três seqüências de extração.

Os dados obtidos dos cromatogramas de cada “branco” revelaram boas condições de análise e manipulação das amostras, tendo em vista que a maioria dos analitos estudados ou não foi encontrada ou estes analitos foram encontrados em concentrações muito baixas.

IV.2.3.4.2. Recuperação

Para avaliar a influência da matriz na análise dos compostos investigados neste trabalho, bem como a recuperação destes compostos na metodologia aplicada, foram feitas extrações de réplicas de amostra de sedimento fortificadas com concentrações conhecidas de padrões externos, denominadas amostras “spikes”. A estas amostras foi adicionada uma solução contendo: mistura de n-C12 – n-C34 + pristano (para os alifáticos) e mistura de CPAs.

Para a avaliação da recuperação dos analitos foram extraídas duas réplicas de sedimento “spikes” e duas réplicas da mesma amostra de sedimento sem adição de padrões. Um branco contendo somente sulfato de sódio anidro foi feito para controle das extrações. Subtraindo-se das concentrações do sedimento “spike”, as concentrações obtidas nas amostras não fortificadas, obteve-se as concentrações recuperadas dos compostos adicionados. Comparando-se com o valor teórico a ser obtido, calculou-se a recuperação em porcentagem.

Para os hidrocarbonetos alifáticos a recuperação média entre todos os compostos foi de 98% com variações aproximadas de 61% a 117%. Para os CPAs a recuperação média entre todos os compostos foi de 74%, com variações entre 60% a 105%.

De acordo com Denoux et al. (1998), os valores de recuperação de padrões externos em análise de matriz “spike” devem estar entre 50% a 120%, para pelo menos 80% dos analitos. Os valores obtidos para todos os analitos estavam dentro desses limites.

Durante todas as extrações de amostras, foram adicionados padrões internos (“surrogates”) ao sedimento no início das extrações. Antes da injeção das amostras nos cromatógrafos, foram adicionados em cada extrato final padrões internos cromatográficos (PIC) para avaliar a recuperação dos PIs adicionados no início.

Analisando a recuperação de todas as extrações realizadas, considerando avaliação da metodologia (material de referência e réplicas para limite de detecção do método) e análise das amostras de sedimento, obteve-se uma recuperação média para o PI da fração F1 78 %, com valores variando

entre 39% a 98% para as amostras de 2001 (uma amostra abaixo de 40%) e para as outras amostras obteve-se média de 55%, com variações entre 30% a 84% (duas amostras abaixo de 40%). Para os Pls da fração F2, para as amostras de 2001 obteve-se média de 77%, com variações entre 47% a 113% e para as outras amostras obteve-se média de 61%, com variações entre 41% a 84%.

Desta forma, todas as análises apresentaram-se com bons índices de recuperação e todos dentro do limite aceitável para Pls (“surrogates”) que é de 50% a 120% (Denoux et al., 1998).

IV.2.3.4.3. Material de Referência Certificado

A metodologia empregada na análise de hidrocarbonetos em sedimento pode ser testada através da comparação dos resultados de um material de referência certificado (SRM).

Segundo Wade & Cantillo (1994), SRMs devem ser utilizados por laboratórios para validar seus métodos analíticos e avaliar sua exatidão.

A avaliação da metodologia utilizada neste trabalho foi realizada através da análise do SRM 1941b da National Institute of Standards and Technology (NIST). Os resultados obtidos foram comparados com os valores certificados fornecidos pela NIST.

Conforme Denoux & Wang (1998), o alcance da mesma distribuição estatística em repetidas análises de um SRM não é freqüentemente garantido e uma variabilidade mais ampla pode ser aceita. Segundo esses autores, a metodologia é validada se 80% dos analitos estiverem dentro de uma variação de $\pm 30\%$ na incerteza do material certificado (Denoux & Wang, 1998). Desta forma, os dados obtidos na análise do material de referência utilizado neste trabalho foram comparados dentro desse intervalo de confiança e todos os CPAs avaliados encontraram-se dentro dessa faixa.

As concentrações obtidas e os valores certificados com o intervalo de confiança do material de referência estão apresentados na Tabelas 3

Tabela 3: Material de Referência Certificado ($\mu\text{g.g}^{-1}$)

Composto	Referência $\pm$ erro	Mínimo	Concentração obtida	Máximo
naftaleno	848 $\pm$ 95	753,0	876,1	943,0
2-metilnaftaleno	276 $\pm$ 53	223,0	288,32	329,0
1-metilnaftaleno	127 $\pm$ 14	113,0	126,61	141,0
bifenil	74 $\pm$ 8	66,0	80,03	82,0
2,6 dimetilnaftaleno	75,9 $\pm$ 4,5	71,4	79,26	80,4
acenaftileno	53,3 $\pm$ 6,4	46,9	57,65	59,7
acenafteno	38,4 $\pm$ 5,2	33,2	40,55	43,6
2,3,5 trimetilnaftaleno	25,5 $\pm$ 5,1	20,4	30,41	30,6
fluoreno	85 $\pm$ 15	70,0	79,52	100,0
fenantreno	406 $\pm$ 44	362,0	393,98	450,0
antraceno	184 $\pm$ 18	166,0	173,47	202,0
9-metilfenantreno	63,5 $\pm$ 2,5	61,0	65,23	66,0
2-metilfenantreno	128 $\pm$ 14	114,0	115,87	142,0
3-metilfenantreno	105 $\pm$ 13	92,0	93,08	118,0
1-metilfenantreno	73,2 $\pm$ 5,9	67,3	75,76	79,1
fluoranteno	651 $\pm$ 50	601,0	656,25	701,0
pireno	581 $\pm$ 39	542,0	550,69	620,0
3-metil-fluoranteno	28,8 $\pm$ 1,3	27,5	29,65	30,1
4-metil-pireno	66,4 $\pm$ 2,6	63,8	68,44	69,0
benzo(a)antraceno	335 $\pm$ 25	310,0	326,13	360,0
criseno	291 $\pm$ 31	260,0	271,48	322,0
benzo(b)fluoranteno	453 $\pm$ 21	432,0	461,16	474,0
benzo(k)fluoranteno	225 $\pm$ 18	207,0	239,35	243,0
benzo(e)pireno	325 $\pm$ 25	300,0	347,91	350,0
benzo(a)pireno	358 $\pm$ 17	341,0	364,61	375,0
perileno	397 $\pm$ 45	352,0	365,52	442,0
indeno [1,2,3-c,d]pireno	341 $\pm$ 57	284,0	387,96	398,0
dibenzo(a,h)antraceno	53 $\pm$ 10	43,0	47,02	63,0
benzo(g,h,i)perileno	307 $\pm$ 45	262,0	305,24	352,0

V - RESULTADOS E DISCUSSÃO

V.1) Alcanos

A Tabela 4 apresenta as concentrações individuais dos n-alcenos de n-C12 a n-C34 e dos alcanos isoprenóides (pristano e fitano) em sedimentos e no petróleo para as amostras de 2005 e 2001.

A Tabela 5 apresenta as concentrações totais em sedimentos e no petróleo e suas razões para as mesmas amostras.

As concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais em 2005 variaram em peso seco entre $13,4\mu\text{g.g}^{-1}$ e $240,0\mu\text{g.g}^{-1}$, e em 2001 variaram entre $43,6\mu\text{g.g}^{-1}$ e $420,5\mu\text{g.g}^{-1}$. Para o óleo os valores foram de $893,1\mu\text{g.g}^{-1}$.

O maior valor encontrado nos sedimentos para 2005 foi na amostra do P3-00 e a menor na amostra P1-40, e para 2001 a maior concentração encontrada foi na amostra P2-20 e a menor foi a mesma encontrada em 2005 (P1-40).

O ponto P3 é o local mais próximo onde ocorreu o derramamento de petróleo, o ponto P1 é o mais afastado do derramamento, perto do Rio Iriri.

A Figura 25 ilustra as concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais para as amostras.

Figura 25: Concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais

Somente nas amostras P1-20 e P2-40 não foi verificada redução nas concentrações entre 2005 e 2001, nas demais amostras houve uma redução significativa.

Tabela 4: Concentrações de n-alcanos, alcanos isoprenóides em sedimentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$, peso seco) e na solução de petróleo ($\mu\text{g.g}^{-1}$)

Petróleo	Ponto 1							Ponto 2							Ponto 3						
	2005				2001			2005				2001			2005				2001		
	P1-00	P1-20	P1-40	P1-00	P1-20	P1-40	P2-00	P2-20	P2-40	P2-00	P2-20	P2-40	P3-00	P3-20	P3-40	P3-00	P3-20	P3-40			
	0,005	n.d.	0,007	0,004	0,006	0,003	n.d.	n.d.	n.d.	0,003	0,003	n.d.	0,028	0,008	n.d.	0,008	0,010	0,005			
	0,010	n.d.	n.d.	0,004	0,004	0,003	n.d.	n.d.	0,003	0,003	0,002	0,002	0,050	0,009	n.d.	0,007	0,007	0,003			
	0,021	0,006	0,009	0,009	0,006	0,007	0,006	0,012	0,024	0,011	0,006	0,006	0,042	0,011	n.d.	0,017	0,017	0,011			
	n.d.	n.d.	0,008	0,015	0,007	0,009	0,004	0,013	n.d.	0,012	0,006	0,006	0,070	0,015	0,013	0,018	0,016	0,009			
	0,024	0,007	0,008	0,014	0,009	0,010	0,010	0,016	0,031	0,013	0,008	0,008	0,087	0,021	0,012	0,023	0,025	0,009			
	0,070	0,032	0,027	0,062	0,015	0,036	0,156	0,221	0,097	0,049	0,030	0,028	0,177	0,064	0,037	0,119	0,093	0,081			
	0,043	n.d.	0,015	0,017	0,011	0,010	n.d.	0,022	0,072	0,020	0,009	n.d.	0,151	0,027	0,015	0,027	0,032	0,009			
	0,026	0,007	0,011	0,012	0,015	0,010	0,018	0,020	0,043	0,015	0,005	0,006	0,082	0,021	0,017	0,012	0,020	0,007			
	0,024	n.d.	n.d.	0,007	n.d.	0,003	n.d.	0,005	0,132	0,038	0,017	0,002	0,040	0,018	n.d.	0,023	0,029	0,002			
	0,020	0,062	0,014	0,098	0,060	0,044	n.d.	0,109	0,085	0,349	0,181	0,033	n.d.	0,095	0,042	0,439	0,311	0,046			
	0,044	0,034	n.d.	0,022	0,020	0,026	0,065	0,051	0,036	0,025	0,019	0,010	0,093	n.d.	0,011	0,027	0,018	0,008			
	0,260	0,296	0,031	0,229	0,305	0,208	0,268	0,288	0,199	0,314	0,230	0,066	0,707	0,107	0,067	0,419	0,321	0,065			
	0,179	0,170	0,029	0,138	0,159	0,105	0,170	0,164	0,162	0,201	0,077	0,045	0,620	0,057	0,033	0,135	0,127	0,057			
	1,720	1,750	0,172	1,269	2,041	1,505	1,415	1,446	0,476	0,897	0,565	0,417	2,453	0,493	0,313	0,813	0,617	0,449			
	0,470	0,548	0,067	0,931	0,583	0,639	0,442	0,456	0,156	3,511	1,279	0,278	1,703	0,237	0,173	1,119	1,575	1,731			
	5,200	5,356	0,545	3,847	4,955	3,775	3,662	3,554	1,355	1,251	1,063	1,111	4,633	1,473	0,960	1,079	1,103	1,411			
	0,706	0,879	0,164	0,572	0,576	0,640	1,227	1,211	0,473	0,448	0,248	0,346	1,176	0,443	0,290	0,394	0,386	n.d.			
	7,293	9,160	1,238	5,360	6,400	5,920	9,609	9,070	4,503	3,656	2,140	2,828	11,867	5,260	2,767	2,884	3,588	4,320			
	1,745	2,152	0,408	1,206	1,266	1,530	2,816	2,439	2,300	1,086	0,694	0,666	3,298	0,938	0,627	1,142	1,214	0,954			
	13,279	18,368	2,524	9,239	12,159	12,919	14,826	13,518	10,279	8,759	3,927	5,079	26,113	11,646	5,079	5,959	n.d.	7,399			
	1,225	1,258	0,284	0,724	0,752	1,148	1,306	1,183	1,155	0,796	0,032	0,524	2,226	1,012	0,497	1,028	0,508	0,600			
	4,964	4,318	1,419	3,191	2,391	3,691	4,479	4,041	1,854	3,343	1,659	1,495	12,839	5,292	2,639	2,963	2,907	1,951			
	0,632	0,518	0,176	0,352	0,255	0,381	0,403	0,370	0,439	n.d.	0,228	0,104	1,941	0,625	0,267	0,220	0,235	0,176			
	2,537	1,859	0,747	1,283	1,031	1,235	1,279	1,125	0,767	0,735	0,245	0,031	6,646	2,406	1,099	0,623	0,919	0,044			
	0,257	0,211	0,111	0,081	0,060	0,075	0,208	0,178	0,084	n.d.	n.d.	n.d.	0,454	0,087	0,044	n.d.	n.d.	0,021			
	6,80	n.d.	n.d.	27,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	86,45	223,52	76,48	7,40	139,60	n.d.	n.d.	169,04	126,84	48,36			

I.d. = limite de detecção; n.d = não detectado; UCM = mistura complexa não-resolvida

Tabela 5: Concentrações alifáticos totais em sedimentos ($\mu\text{g.g}^{-1}$, peso seco) e na solução de petróleo ($\mu\text{g.g}^{-1}$) e suas razões

Compostos e razões	Petróleo	2005			2001			
		00 (0,0 - 0,1m)	20 (0,2 - 0,3m)	40 (0,4 - 0,5m)	00 (0,0 - 0,1m)	20 (0,2 - 0,3m)	40 (0,4 - 0,5m)	
Σ n-alcanos	622,465	40,687	46,991	7,999	28,662	33,075	33,919	Ponto 1
Σ alifáticos	863,1	66,3	58,5	13,4	75,4	48,4	43,6	
Alifáticos Resolvidos	863,1	59,5	58,9	13,480	48,4	48,4	43,6	
UCM	n.d.	6,8	n.d.	n.d.	27,0	n.d.	n.d.	
CPI	1,06	7,12	7,53	5,77	6,93	8,55	6,82	
pristano/fitano	1,01	1,79	n.c.	n.c.	2,43	n.c.	3,33	
pristano/n-C17	0,96	0,61	n.c.	0,56	0,27	0,73	0,28	
fitano/n-C18	1,31	0,92	n.c.	n.c.	0,58	n.c.	0,30	
Σ n-alcanos	622,465	42,369	39,485	24,521	25,477	12,647	13,089	Ponto 2
Σ alifáticos	863,1	65,4	64,1	140,7	312,7	420,5	116,6	
Alifáticos Resolvidos	863,1	65,4	64,1	54,2	89,2	344,0	109,2	
UCM	n.d.	n.d.	n.d.	86,5	223,5	76,5	7,4	
CPI	1,06	5,57	5,67	4,18	5,32	5,57	5,95	
pristano/fitano	1,01	n.c.	4,40	0,55	0,53	0,53	n.c.	
pristano/n-C17	0,96	n.c.	0,10	0,74	0,41	0,30	n.c.	
fitano/n-C18	1,31	n.c.	0,25	3,07	2,53	3,40	0,33	
Σ n-alcanos	622,465	77,305	30,320	14,987	19,448	14,017	19,357	Ponto 3
Σ alifáticos	863,1	240,0	45,0	20,6	264,3	214,0	406,0	
Alifáticos Resolvidos	863,1	100,4	45,0	20,6	95,3	87,2	357,6	
UCM	n.d.	139,6	n.d.	n.d.	169,0	126,8	48,4	
CPI	1,06	6,41	8,20	7,02	4,15	2,90	6,50	
pristano/fitano	1,01	3,78	1,50	n.c.	1,17	1,10	4,50	
pristano/n-C17	0,96	0,85	0,42	0,41	0,23	0,34	0,11	
fitano/n-C18	1,31	0,49	0,86	n.c.	1,92	1,45	0,29	

n.d. = não detectado; n.c.= não calculado; Σ n-alcanos = n-C12 + n-C13 + n-C14 + n-C15 + n-C16 + n-C17 + n-C18 + n-C19 + n-C20 + n-C21 + n-C22 + n-C23 + n-C24 + n-C25 + n-C26 + n-C27 + n-C28 + n-C29 + n-C30 + n-C31 + n-C32 + n-C33 + n-C34; Σ alifáticos = Alifáticos totais (Alifáticos Resolvidos + UCM); UCM = mistura complexa não-resolvida; CPI = Índice Preferencial de Carbono

Em todas as amostras, os n-alcenos predominantes foram os de cadeias ímpares C27, C29, C31 e C33 (Figura 26), indicando importante introduções de compostos de origem biogênica, de plantas superiores (Eglinton & Hamilton, 1967), proveniente da abundante vegetação terrestre na região, cujas contribuições podem ser direta ou via águas fluviais.

Figura 26: Concentração n-alcenos (n-C23 – n-C33) nas amostras

A Figura 27 ilustra a importância dos n-alcenos de cadeias ímpares sobre os de cadeias pares para as amostras, no caso do óleo a contribuição de cadeias pares e ímpares são próximas:

Figura 27: Concentração de *n*-alcanos de cadeias ímpares e pares totais nas amostras

O índice preferencial de carbono (CPI) apresentou-se com valores acima de 2,90 para todas as amostras, chegando até a 8,55 (Figura 28). Para o petróleo, como esperado; este valor é próximo de 1 (1,06).

Figura 28: Valor de CPI para as amostras

Muitas amostras, mesmo apresentando CPI elevado, também apresentam os n-alcanos de cadeias pares, indicando contribuições petrogênicas e biogênicas.

Como os n-alcanos são compostos biogênicos muito importantes na área de estudo, é importante verificar outros parâmetros que podem se constituir em evidências melhores sobre a introdução de hidrocarbonetos de petróleo.

Para maioria das amostras foi possível quantificar os níveis dos alcanos isoprenóides pristano e fitano, sendo observados principalmente nas amostras de sedimentos P2 e P3, onde estes valores mostram maior presença de pristano, indicando fonte biogênica.

Valores altos (superior a 1) para as razões pristano/n-C17 e fitano/n-C18 (Figura 29), indicam a presença de óleo degradado, pois os n-alcanos são mais favoravelmente biodegradados que os ramificados (Colombo et al., 1989). Apenas algumas amostras apresentam valores superiores a 1, como é o caso da amostra P2-40 em 2005 e P2-00, P2-20, P3-00, P3-20 em 2001.

Em diversas amostras, as razões pristano/n-C17 e fitano/n-C18 calculadas estão abaixo de 1, em alguns casos essas razões não foram

calculadas pois um desses compostos apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção.

De forma geral, as concentrações dos isoprenóides foram menores, o que indicaria a presença de petróleo não degradado para a área.

Figura 29: Razão pristano/C17 e fitano/C18

Quanto maior a razão pristano/fitano, maior a contribuição biogênica. A maioria dos valores foram altos. Valores próximos de 1,0-1,5 indicaria a presença de predominante de fonte petrogênica. A Figura 30 ilustra esta relação.

Figura 30: Razão pristano/fitano

Até o momento, o uso dos parâmetros apresentados (n-alcanos, alifáticos totais, CPI, pristano/n-C17, fitano/n-C18 e pristano/fitano) não foi suficiente para avaliar a contribuição do derrame no local. Apenas com estes parâmetros não é possível avaliar a contribuição petrogênica.

Sem a constatação da presença de óleo no ambiente estará excluído o nexo causal, a possível ação ou omissão do agente causador do dano ambiental. Existe o princípio "*in dubio pro réu*", ou seja, é preferível um culpado solto a um inocente condenado. Este princípio não entra em confronto com o princípio de precaução, que deve se decidir em favor do meio ambiente, deste que exista o nexo causal.

Outros parâmetros se fazem necessário para a constatação da contribuição petrogênica na área.

A UCM é formada por compostos do petróleo resistentes a degradação e que acumulam no sedimento. Assim, a presença de UCM comprova a existência de petróleo degradado (Volkman et al., 1992; Gough & Rowland, 1990).

Das dezoito amostras de sedimentos, dez apresentaram UCM, sendo 3 amostras em 2005 e 7 amostras em 2001.

A concentração desta mistura não-resolvida (UCM) de 2005 variaram entre $6,8\mu\text{g.g}^{-1}$ e $139,6\mu\text{g.g}^{-1}$, e de 2001 variaram entre $7,4\mu\text{g.g}^{-1}$ e $223,5\mu\text{g.g}^{-1}$ nas amostras de sedimentos. O petróleo não apresentou UCM, pois estava guardado em vidro âmbar e hermeticamente fechado, não tendo sofrido degradação.

Entre as amostras de 2005 e 2001 houve uma redução da concentração de UCM apenas no ponto P2-40 não ocorreu redução.

A presença de UCM já comprova a contribuição petrogênica na área, porém não informa se esta contribuição é do óleo do derramamento. Com exceção do ponto P2 de 2005, todos os demais testemunhos apresentaram a UCM na superfície. Segundo Santa-Cruz(2004) a taxa de sedimentação do mangue de Bertioga é em média 0,6 cm/ano, após 22 anos (1983-2005), o óleo se concentraria a uma profundidade de 13,2cm a partir do topo, o que explica os maiores valores encontrados na superfície (0,0 – 10,0cm).

Em 2001, nos pontos P2 e P3 nota-se a redução da concentração de UCM ao longo do testemunho a partir do topo para a base (Figura 31).

Figura 31: Concentrações de UCM

V.2) Biomarcadores de Petróleo

A Tabela 6 apresenta os biomarcadores analisados e seus respectivos números de referência utilizados para identificação dos picos dos cromatogramas nos Anexos 1 e 2, bem como para identificar os compostos da Tabela 7 (terpanos e hopanos) e 8 (esteranos), onde são apresentadas as concentrações individuais obtidas para as amostras de sedimentos e do petróleo. A Tabela 9 apresenta as concentrações totais de cada classe dos biomarcadores de petróleo e suas razões.

Tabela 6: Biomarcadores de petróleo analisados

(m/z 191)		(m/z 217)	
Nr	Composto	Nr	Composto
Terpanos	1 C20-Terpano Tricíclico	1	13 β , 17 α -diacolestano (20S)
	2 C21-Terpano Tricíclico	2	13 β , 17 α -diacolestano (20R)
	3 C23-Terpano Tricíclico	3	13 α , 17 β -diacolestano (20S)
	4 C24-Terpano Tricíclico	4	13 α , 17 β -diacolestano (20R)
	5 C25-Terpano Tricíclico	5	24-metil-13 β , 17 α -diacolestano (20S)
	6 C24-Terpano Tetracíclico	6*	24-metil-13 α , 17 β -diacolestano (20S) / 5 α , 14 α , 17 α -colestano (20S)
	7 C26-Terpano Tricíclico	7*	24-etil-13 β , 17 α -diacolestano (20S) / 5 α , 14 β , 17 β -colestano (20R)
Hopanos	8 C27-18 α (H)-22,29,30-trisnorhopano (Ts)	8*	24-metil-13 α , 17 β -diacolestano (20R) / 5 α , 14 β , 17 β -colestano (20S)
	9 22,29,30-Trisnorhop-17(21)-eno (Te)	9	5 α , 14 α , 17 α -colestano (20R)
	10 C27-17 α (H)-22,29,30-tirsnorhopano (Tm)	10	24-etil-13 β , 17 α -diacolestano (20R)
	11 17 β (H)-22,29,30-Trisnorhopano (T β)	11	24-etil-13 α , 17 β -diacolestano (20S)
	12 C29-17 α , 21 β Norhopano	12	24-metil-5 α , 14 α , 17 α -colestano (20S)
	13 C29-17 β , 21 α Norhopano	13	24-metil-5 α , 14 β , 17 β -colestano (20R) / 24-etil-13 α , 17 β -diacolestano (20R)
	14 C30-17 α , 21 β Hopano	14	24-metil-5 α , 14 β , 17 β -colestano (20S)
	15 C30-17 β , 21 α Hopano	15	24-metil-5 α , 14 α , 17 α -colestano (20R)
	16 C31-17 α , 21 β Homohopano (22 S)	16	24-etil-5 α , 14 α , 17 α -colestano (20S)
	17 C31-17 α , 21 β Homohopano (22 R)	17	24-etil-5 α , 14 β , 17 β -colestano (20R)
	18 C30-17 β , 21 β Hopano	18	24-etil-5 α , 14 β , 17 β -colestano (20S)
	19 C32-17 α , 21 β Homohopano (22 S)	19	24-etil-5 α , 14 α , 17 α -colestano (20R)
	20 C32-17 α , 21 β Homohopano (22 R)		
	21 C33-17 α , 21 β Homohopano (22 S)		
	22 C33-17 α , 21 β Homohopano (22 R)		
	23 C34-17 α , 21 β Homohopano (22 S)		
	24 C34-17 α , 21 β Homohopano (22 R)		
	25 C35-17 α , 21 β Homohopano (22 S)		
	26 C35-17 α , 21 β Homohopano (22 R)		

*Co-eluídos

Nr = número de referência

Tabela 7: Concentrações de biomarcadores de petróleo (terpanos e hopanos) em sedimentos ($ng.g^{-1}$, peso seco) e na solução de petróleo ($ng.g^{-1}$)

Compostos	I.d.	Petróleo	Ponto 1						Ponto 2						Ponto 3					
			2005			2001			2005			2001			2005			2001		
			P1-00	P1-20	P1-40	P1-00	P1-20	P1-40	P2-00	P2-20	P2-40	P2-00	P2-20	P2-40	P3-00	P3-20	P3-40	P3-00	P3-20	P3-40
Terpanos (m/z 191)	1	5.666,49	97,43	26,13	4,46	146,85	7,17	9,27	1.243,38	34,49	9,26	633,96	330,59	12,02	368,17	3,73	4,42	1.027,39	730,88	11,57
	2	8.728,99	19,93	24,31	n.d.	304,54	12,34	15,94	1.964,38	8,35	n.d.	1.377,71	654,61	16,75	791,05	3,45	7,43	2.232,39	1.447,25	14,26
	3	9651,61	147,54	57,82	n.d.	350,43	43,35	56,01	1.806,41	30,15	11,97	1.880,27	845,2	19,15	1.095,27	24,32	10,47	3.441,77	2.033,42	27,33
	4	6.820,36	120,65	16,77	n.d.	262,83	14,65	18,93	1.516,21	n.d.	n.d.	1.360,21	631,21	13,06	770,93	217,78	60,62	2.512,15	1.632,92	90,4
	5	4.313,08	94,2	7,73	n.d.	256,3	22,72	37,65	564,45	n.d.	n.d.	423,94	275,31	9,52	591,89	30,26	18	713,74	604,84	n.d.
	6	5.498,12	51,69	8,77	n.d.	163,42	12,54	16,2	443,86	n.d.	n.d.	897,34	401,33	10,73	582,4	n.d.	5,66	1.902,58	1.083,89	21,62
	7	3.428,83	46,32	6,43	n.d.	86,06	6,02	7,78	504,81	n.d.	n.d.	560,24	243,91	5,8	340,5	n.d.	2,55	1.193,24	649,23	12,49
Hopanos (m/z 191)	8	7.388,10	79,66	40,26	7,33	222,45	20,42	26,37	1.026,64	n.d.	1,66	1.170,38	567,92	n.d.	1.129,55	41,24	14,51	2.496,24	1.425,32	34,36
	9	11.824,53	292,7	114,37	n.d.	244,99	464,02	599,45	2.137,75	n.d.	n.d.	216,64	180,89	114,39	1075,7	7,84	14,38	4.295,42	2.134,67	309,94
	10	3.221,02	134,16	5,24	59,49	327,39	37,93	49	52,5	n.d.	106,72	1.952,85	763,47	21,42	292,77	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	46,22
	11	6.887,23	32,81	19,83	4,58	107,57	84,37	109	687,23	120,91	20,57	246,47	n.d.	50,42	249,73	n.d.	n.d.	1.125,49	321,68	70,73
	12	25.718,09	479,29	162,46	n.d.	920,27	110,71	143,03	8.539,38	35,24	n.d.	5.203,63	2.108,52	81,51	2.994,12	138,45	44,96	10.299,34	5.666,52	196,86
	13	3.732,28	78,23	69,08	72,25	122,76	35,21	45,49	741,48	168,83	85,86	618,4	216,28	21,41	314,52	32,24	32,72	1.144,28	533,75	37,32
	14	56.189,64	603,82	124,27	n.d.	1.447,87	104,99	135,64	10.707,87	47,09	20,71	9.382,59	3.636,10	77,54	4.533,69	29,76	n.d.	18.875,64	9.908,83	n.d.
	15	8.934,40	114,54	10,06	n.d.	232,84	79,69	102,95	1.907,59	12,54	n.d.	346,66	447,17	47,61	833,07	77,13	70,97	758,23	1.247,75	99,49
	16	14.520,71	172,17	69,54	n.d.	457,52	81,93	105,84	2.695,85	67,54	69,28	2.386,97	1.023,73	9,03	1.316,30	31,16	28,91	4.786,64	2.708,94	101,3
	17	11.931,37	229,98	23,93	11,42	398,25	89,17	115,19	2.770,53	n.d.	n.d.	1821,63	794	64,05	1.118,46	78,76	88,75	3.507,10	2.215,77	103,13
	18	26.276,50	72,72	n.d.	17,32	153,59	81,7	105,55	622,42	n.d.	n.d.	412,28	214,45	48,15	1.635,99	n.d.	14,34	1.195,96	731,73	92,3
	19	10.456,73	120,12	121,11	14,23	290,87	33,66	43,49	1.978,43	n.d.	n.d.	1.569,69	682,94	20,2	883,56	n.d.	17,4	3.168,19	1.718,28	57,1
	20	8.002,20	73,39	101,18	n.d.	220,86	23,52	30,39	1.218,45	n.d.	n.d.	1.127,25	508,85	14,14	657,19	n.d.	7,96	2.454,76	1.345,73	41,3
	21	5.990,19	79,41	106,21	n.d.	73,28	95,04	122,78	1.503,26	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	70,92	553,03	n.d.	n.d.	n.d.	310,24	80,25
	22	3.553,51	98,04	14,21	n.d.	145,59	n.d.	n.d.	1.126,20	n.d.	n.d.	860,77	388,12	n.d.	317,39	n.d.	n.d.	1.939,94	904,32	26,39
	23	5.248,21	36,02	21,23	n.d.	93,27	4,93	6,37	536,11	n.d.	n.d.	371,84	187,83	3,77	459,12	n.d.	n.d.	1.122,59	726,07	21,11
	24	2.829,12	27,28	9,67	n.d.	55,91	3,81	4,93	394,24	n.d.	n.d.	197,38	108,84	2,83	271,15	n.d.	n.d.	653,73	355,51	8,99
	25	3.322,53	41,17	7,52	n.d.	38,68	4,14	5,34	561,38	n.d.	n.d.	256,83	117,62	2,33	219,58	n.d.	n.d.	523,37	355,68	13,89
	26	2.673,53	27,83	4,26	n.d.	31,84	2,05	2,65	368,69	n.d.	n.d.	143	79,12	1,34	143,6	n.d.	n.d.	376,21	221,09	8,49

I..d. = limite de detecção; n.d. = não detectado

Tabela 8: Concentrações de biomarcadores de petróleo (esteranos) em sedimentos ($ng.g^{-1}$, peso seco) e na solução de petróleo ($ng.g^{-1}$)

Compostos	I.d.	Petróleo	Ponto 1				Ponto 2				Ponto 3			
			2005		2001		2005		2001		2005		2001	
			P1-00	P1-20	P1-40	P1-00	P1-20	P1-40	P2-00	P2-20	P2-40	P3-00	P3-20	P3-40
1	0,36	6.251,82	29,76	6,34	n.d.	45,55	6,84	8,84	257,72	n.d.	n.d.	204,18	1,60	1,93
2	0,09	4.239,01	23,07	4,91	n.d.	26,93	2,65	3,43	224,86	n.d.	n.d.	183,79	4,33	5,23
3	0,17	1.948,33	8,26	n.d.	n.d.	15,06	2,55	n.d.	93,46	n.d.	2,77	69,35	n.d.	n.d.
4	0,06	2.046,37	11,33	n.d.	n.d.	11,29	2,59	3,34	295,06	n.d.	n.d.	56,39	n.d.	n.d.
5	0,17	1.505,01	18,84	n.d.	n.d.	30,90	2,78	3,59	221,63	n.d.	n.d.	96,65	n.d.	n.d.
6	0,97	7.776,01	51,07	15,46	5,31	27,19	4,14	5,34	494,73	n.d.	n.d.	134,98	n.d.	n.d.
7	0,85	9.465,91	78,08	12,36	3,38	117,81	9,15	11,82	503,02	n.d.	31,80	438,39	n.d.	n.d.
8	1,05	3.385,40	48,67	23,61	10,11	15,97	3,44	4,45	1.115,34	n.d.	n.d.	64,98	n.d.	n.d.
9	0,68	15.881,58	22,49	n.d.	n.d.	44,15	4,51	5,83	1.050,86	n.d.	n.d.	168,17	4,00	4,83
10	0,61	7.844,48	36,41	7,95	n.d.	124,92	5,49	7,09	597,58	n.d.	1,40	493,62	n.d.	n.d.
11	0,97	1.841,50	17,96	n.d.	13,87	27,66	n.d.	n.d.	321,41	n.d.	6,25	162,07	8,20	9,90
12	0,51	2.130,03	40,49	9,96	7,12	12,10	6,22	8,04	427,09	40,41	4,39	81,46	2,79	3,37
13	0,79	2.689,78	44,39	13,72	4,40	17,03	12,32	15,92	1.089,17	n.d.	n.d.	48,43	n.d.	n.d.
14	1,00	1.095,79	15,44	8,02	n.d.	32,08	3,16	4,09	1.162,88	36,53	6,75	86,70	n.d.	n.d.
15	1,16	9.887,92	n.d.	50,70	32,57	71,83	5,05	6,53	488,07	n.d.	n.d.	220,77	2,65	3,20
16	0,87	8.930,41	99,07	n.d.	n.d.	128,98	14,73	19,03	1.154,16	26,32	n.d.	477,30	2,57	3,10
17	0,86	7.635,34	25,89	5,75	4,24	100,47	21,60	27,91	775,07	n.d.	n.d.	314,88	n.d.	n.d.
18	0,87	4.695,39	16,69	5,00	n.d.	42,04	3,20	n.d.	974,21	n.d.	n.d.	204,32	4,84	5,85
19	0,57	16.218,34	24,90	n.d.	2,67	105,96	27,52	131,63	820,24	11,22	n.d.	628,70	28,88	34,86

I..d. = limite de detecção; n.d. = não detectado

Tabela 9: Concentrações biomarcadores de petróleo em sedimentos (ng.g^{-1} , peso seco) e na solução de petróleo (ng.g^{-1}) e suas razões

Compostos e Razões	Petróleo	2005			2001			
		00 (0,0 - 0,1m)	20 (0,2 - 0,3m)	40 (0,4 - 0,5m)	00 (0,0 - 0,1m)	20 (0,2 - 0,3m)	40 (0,4 - 0,5m)	
Terpanos	44.107,4	577,7	147,9	4,4	1570,4	118,7	161,7	Ponto 1
Hopanos	218.699,9	2.793,3	1.024,4	186,6	5.585,7	1.357,3	1.753,4	
Esteranos	115.468,4	612,8	163,8	83,6	997,9	137,9	266,8	
Biomarcadores ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	378,28	3,98	1,34	0,27	8,15	1,61	2,18	
α,β S/(S+ R)	0,58	0,50	0,68	0,55	0,53	0,65	0,65	
Terpanos	44.107,4	8.043,5	72,9	21,2	7.133,67	3.382,1	87,0	Ponto 2
Hopanos	218.699,9	39.575,9	452,1	304,8	28.285,2	12.025,8	651,0	
Esteranos	115.468,4	12.066,5	114,4	53,3	8.710,26	3.645,7	133,4	
Biomarcadores ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	378,28	59,69	0,64	0,38	44,13	19,05	0,87	
α,β S/(S+ R)	0,58	0,55	n.c.	n.c.	0,52	0,52	0,56	
Terpanos	44.107,4	4.540,2	279,5	109,1	13.023,2	8.182,4	177,6	Ponto 3
Hopanos	218.699,9	18.998,5	436,5	334,9	58.723,1	32.831,8	1.349,1	
Esteranos	115.468,4	4.135,1	59,8	72,2	19.906,9	10.207,7	229,5	
Biomarcadores ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	378,28	27,67	0,78	0,52	91,65	51,22	1,76	
α,β S/(S+ R)	0,58	0,58	0,28	0,32	0,52	0,54	0,59	

n.c = não calculado; α,β S/(S+ R) = $\sum \text{C31-C35 } 17\alpha,21\beta \text{ Homohopano } 22 \text{ (S)} / [\sum \text{C31-C35 } 17\alpha,21\beta \text{ Homohopano } 22 \text{ (S)} + \text{(R)}]$

Todas as amostras analisadas apresentaram biomarcadores de petróleo em concentrações quantificáveis, com concentração total variando de $0,38\mu\text{g.g}^{-1}$ para 2005 e $0,87\mu\text{g.g}^{-1}$ para 2001 até $59,7\mu\text{g.g}^{-1}$ para 2005 e $91,6\mu\text{g.g}^{-1}$ para 2001, no óleo a concentração foi de $378,2\mu\text{g.g}^{-1}$, evidenciando a presença de petróleo no mangue.

As maiores concentrações nos sedimentos de biomarcadores foram encontradas nas amostra de P2 e P3 e as menores concentrações nos sedimentos P1. Isto ocorreu tanto em 2005 como em 2001 (Figura 32).

Ao longo de cada testemunho individualmente, a partir do topo para a base, é verificado uma redução na concentração dos biomarcadores. Quando a

comparação das amostra é feita em relação a época da coleta, apenas a amostra P2-00 não se verifica uma redução entre os anos.

Figura 32: Concentrações de biomarcadores de petróleo ($\mu\text{g.g}^{-1}$)

A concentração de hopanos totais foi sempre muito superior às outras duas classes de biomarcadores de petróleo nas amostras de sedimentos. Os

valores de concentrações totais dos terpanos e esteranos foram próximos entre si para quase todas os pontos, exceto para P2-00 de 2005, P3-00 e P3-20 de 2001. A Figura 33 ilustra a distribuição entre estas classes de biomarcadores nas amostras de sedimento e no óleo.

Figura 33: Concentrações totais de terpanos, esteranos e hopanos nas amostras (ng.g^{-1})

De maneira geral, individualmente cada classe dos biomarcadores apresentou uma redução na concentração ao longo do testemunho (do topo para base).

Um número reduzido de homólogos de terpanos está presente no petróleo, o que explica a sua baixa concentração das amostras coletadas. Já os esteranos e os hopanos, possuem alta complexidade estereoquímica, formando uma vasta série de homólogos e estereoisômeros, sendo muitos deles quantificados neste trabalho. Segundo Hauser et al. (1999), os esteranos são mais suscetíveis a biodegradação que os hopanos, justificando as maiores concentrações destes últimos nas amostras de sedimentos. Isso ocorre pois os hopanos de configuração $17\alpha,21\beta$ são compostos altamente estáveis. Os máximos de terpanos, esteranos e hopanos ocorreram em P2-00 com concentrações de, respectivamente, $8.043,5\text{ng.g}^{-1}$, $12.066,5\text{ng.g}^{-1}$ e $39.575,9\text{ng.g}^{-1}$ em 2005. Para 2001 as concentrações máximas foram no P3-00 foram, respectivamente, $13.023,2\text{ng.g}^{-1}$, $19.906,9\text{ng.g}^{-1}$ e $58.723,1\text{ng.g}^{-1}$.

A estreita proporcionalidade entre as concentrações dos epímeros 22S e 22R da série de C31-C35 $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ homohopanos (α,β S/(S+ R)), confirma a presença de petróleo nas amostras. Os homohopanos biologicamente gerados possuem a configuração $17\beta(\text{H}),21\beta(\text{H})$ 22R. Durante os processos diagenéticos, que originam o petróleo, ocorrem transformações nesta estrutura, produzindo espécies mais estáveis do tipo $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ com iguais proporções dos epímeros 22S e 22R (Volkman et al., 1997; Hauser et al., 1999).

Para todas as amostras os valores da razão α,β S/(S+R) variou entre 0,28 e 0,68 para 2005 com uma média de 0,50 e para o ano de 2001 entre 0,52 e 0,65 com uma média de 0,56. Todas as amostras de sedimento, apresentaram uma média de $0,53 \pm 0,10$ próxima a razão encontrado no petróleo (0,58), evidenciando a presença do óleo do derramamento no local, por mais de 20 anos (Michel, 2002). É possível perceber que tanto maiores as concentrações destes compostos e próximos a superfície (0-10 cm), mais próximos fica a razão entre as amostras e o óleo. Nas amostras com concentrações menores os erros analíticos tendem a ser maiores podendo ser refletido na razão.

Apenas as amostras P2-20 e P2-40 em 2005 não foi calculado razão α,β S/(S+ R), pois a concentração de 22R não atingiu o valor acima do limite de detecção.

A Figura 34 pode ilustrar melhor a similaridade entre as concentrações e a Figura 35 a razão α,β S/(S+R).

Figura 34: Concentrações totais dos C31-C35 17 $\alpha,21$ β homohopanos 22S e 22R nas amostras de sedimento (ng.g⁻¹, peso seco) e no petróleo (ng.g⁻¹)

Figura 35: Razão $\alpha, \beta S/(S+R)$ nas amostras de sedimento e no petróleo.

Este parâmetro ($\alpha, \beta S/(S+R)$) tem uma grande importância, principalmente em uma relação jurídica, pois através dele pode-se concluir a presença do óleo derramado e possibilitando a existência do nexo causal.

V.3) Compostos Policíclicos Aromáticos (CPA)

A Tabela 10 e Tabela 11 apresentam os resultados dos principais CPAs analisados e os parâmetros utilizados na determinação da fonte e nível de degradação dos mesmos.

A concentração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos totais das amostras de sedimento varia em peso seco de $83,0\text{ng.g}^{-1}$ até $1238,9\text{ng.g}^{-1}$, (Figura 36). Um exemplo de cromatograma com os CPAs identificados está apresentado no Anexo 3.

As amostras coletadas em 2001 foram re-injetadas novamente nas mesmas condições que as amostras de 2005 para que se pudesse analisar todos os compostos. Infelizmente a amostra P3-00 de 2001 não estava em condições de ser analisada e por este motivo os resultados não aparecem nas tabelas, sendo apresentado como n.c. (não calculado).

Figura 36: Concentração de total de CPAs (incluindo o perileno)

Tabela 10: Concentrações de CPAs em sedimentos ($ng.g^{-1}$, peso seco) e na solução de petróleo ($ng.g^{-1}$)

Compostos	I.d.	Petróleo	Ponto 1				Ponto 2				Ponto 3											
			2005		2001		2005		2001		2005		2001									
			P1-00	P1-20	P1-40	P1-00	P1-20	P1-40	P2-00	P2-20	P2-40	P2-00	P2-20	P2-40	P3-00	P3-20	P3-40	P3-00	P3-20	P3-40		
naftaleno	1,60	2.555,60	7,00	4,50	2,50	4,50	13,70	31,29			11,03	4,11	n.d.	n.d.	17,70	n.d.	3,50	n.d.	n.d.	n.c.	13,30	n.d.
Σ naftalenos alq.	1,30	31.537,46	4,00	1,66	n.d.	31,90	24,30	27,10			38,46	9,99	n.d.	28,70	28,30	17,50	11,16	n.d.	n.d.	n.c.	77,00	28,30
bifenil	1,30	596,79	1,50	n.d.	n.d.	2,00	5,19	4,00			2,30	1,53	n.d.	2,80	3,20	n.d.	1,33	n.d.	n.d.	n.c.	4,00	1,59
acenafileno	3,70	254,91	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,90	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.c.	n.d.	n.d.
acenafeno	1,30	85,47	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.c.	1,60	7,19
fluoreno	1,30	426,85	2,00	n.d.	n.d.	2,80	2,00	2,40			3,84	1,53	n.d.	2,40	1,60	n.d.	1,33	n.d.	n.d.	n.c.	2,80	10,00
Σ fluorenos alq.	1,30	1.538,46	2,00	2,22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			16,89	n.d.	n.d.	n.d.	1,60	n.d.	13,32	n.d.	n.d.	n.c.	91,19	15,59
dibenzotiofeno	1,30	85,47	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.c.	4,00	n.d.
fenantreno	2,60	1.365,52	8,00	3,88	n.d.	11,20	6,80	6,00			9,99	3,07	n.d.	8,00	6,00	3,20	6,66	3,33	2,66	n.c.	11,60	24,40
antraceno	1,10	416,85	3,50	n.d.	1,50	n.d.	n.d.	n.d.			3,15	2,38	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,50	n.d.	4,83	n.c.	n.d.	n.d.
Σ dibenzotiofenos alq.	1,30	509,35	n.d.	n.d.	n.d.	1,60	n.d.	n.d.			n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,00	n.d.	n.d.	n.c.	55,20	4,80
Σ fenantrenos alq.	2,20	5.982,90	14,00	4,44	n.d.	25,60	11,60	n.d.			10,76	n.d.	n.d.	8,80	2,80	n.d.	11,33	n.d.	n.d.	n.c.	122,80	10,40
fluoranteno	1,30	84,97	25,50	26,11	2,50	27,90	22,70	3,50			21,53	8,46	2,00	11,90	7,50	3,90	14,66	10,66	5,33	n.c.	17,10	25,50
Σ fluorantenos alq.	1,30	85,47	6,50	3,32	n.d.	6,80	3,20	n.d.			n.d.	n.d.	n.d.	9,60	6,40	n.d.	4,66	1,33	n.d.	n.c.	n.d.	1,60
pireno	1,30	255,41	25,50	26,11	2,00	27,10	19,89	2,70			37,69	6,92	1,50	24,30	17,50	3,50	27,33	9,33	4,66	n.c.	40,29	19,50
Σ pirenos alq.	1,30	85,47	5,50	6,10	n.d.	11,60	3,60	n.d.			52,29	n.d.	n.d.	52,40	33,20	n.d.	22,66	n.d.	n.d.	n.c.	73,20	1,60
benzo(a)antraceno	1,20	n.d.	10,50	8,88	n.d.	14,39	8,80	1,60			n.d.	2,30	n.d.	n.d.	2,00	1,20	7,33	4,66	1,33	n.c.	n.d.	5,60
criseno	1,20	341,88	15,50	9,44	2,00	30,00	10,80	2,80			149,99	3,07	2,00	145,19	77,20	3,20	73,33	6,00	n.d.	n.c.	148,40	12,80
Σ crisenos alq.	1,30	854,70	42,50	11,63	n.d.	98,39	22,80	4,79			441,51	1,53	4,50	391,58	237,58	9,60	159,98	3,33	2,66	n.c.	547,17	11,59
benzo(b)fluoranteno	1,30	n.d.	32,50	21,66	3,50	32,40	19,20	3,59			31,53	6,92	3,50	n.d.	n.d.	3,59	n.d.	10,66	4,66	n.c.	n.d.	12,00
benzo(k)fluoranteno	1,30	n.d.	14,00	8,33	n.d.	13,20	13,20	2,00			16,92	2,30	3,50	n.d.	n.d.	2,40	n.d.	5,33	2,66	n.c.	n.d.	6,00
benzo(e)pireno	1,30	n.d.	22,50	13,88	1,50	n.d.	10,80	1,60			102,30	3,07	n.d.	n.d.	n.d.	2,40	n.d.	6,00	2,66	n.c.	n.d.	7,19
benzo(a)pireno	1,10	n.d.	20,50	11,66	n.d.	19,20	10,40	n.d.			n.d.	2,30	n.d.	n.d.	n.d.	1,20	n.d.	4,66	1,33	n.c.	n.d.	5,60
perileno	1,20	n.d.	50,50	43,33	63,00	100,40	58,00	444,79			n.d.	26,15	169,00	20,80	14,39	45,59	150,00	249,33	145,33	n.c.	45,20	63,60
indeno[1,2,3-c,d]pireno	1,00	n.d.	25,00	16,66	2,50	36,40	22,00	4,40			n.d.	4,61	2,00	9,60	5,20	4,80	n.d.	7,33	4,66	n.c.	n.d.	14,00
dibenzo(a,h)antraceno	1,00	n.d.	5,00	2,77	n.d.	n.d.	2,40	1,20			n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.c.	n.d.	2,00
benzo(g,h,i)perileno	1,20	n.d.	23,00	15,55	2,00	40,79	9,60	2,80			40,76	4,61	1,50	24,00	13,60	4,40	26,66	11,33	6,66	n.c.	n.d.	13,60

alq. = alquilados; I.d. = limite de detecção; n.d. = não detectado; n.c. = não calculado; Σ naftaleno alq. = 2-metilnaftaleno + 1-metilnaftaleno + 1,3-dimetilnaftaleno + 1,7-dimetilnaftaleno + 2,3-dimetilnaftaleno + 1,6,7-trimetilnaftaleno + 1,4,6-trimetilnaftaleno + 2,3,6-trimetilnaftaleno + 2,3,5-trimetilnaftaleno + 1,4,5-trimetilnaftaleno; Σ fluorenos alq. = 3-metil-fluoreno + 2-metil-fluoreno + 1-metil-fluoreno + 3,6-dimetil-fluoreno + 4,7-dimetil-fluoreno + 1,3-dimetil-fluoreno + 2,7-dimetil-fluoreno + 3,8-dimetil-fluoreno; Σ dibenzotiofenos alq. = 1-metildibenzotiofeno + 3-metildibenzotiofeno + 2,6-dimetildibenzotiofeno + 1,4-dimetildibenzotiofeno; Σ fenantrenos alq. = 9-metilfenantreno + 2-metilfenantreno + 3-metilfenantreno + 4-metilfenantreno + 1-metilfenantreno + 2,7-dimetilfenantreno + 4,5-dimetilfenantreno + 5,7-dimetilfenantreno + 3,8-dimetilfenantreno + 1,4-dimetilfenantreno + 2,6-dimetilfenantreno; Σ fluorantenos alq. = 4-metil-fluoranteno + 3-metil-fluoranteno + 2-metil-fluoranteno + 1,3-dimetil-fluoranteno + 2,7-dimetil-fluoranteno + 3,8-dimetil-fluoranteno + 4,7-dimetil-fluoranteno + 5,7-dimetil-fluoranteno + 6,8-dimetil-fluoranteno + 7,9-dimetil-fluoranteno + 8,9-dimetil-fluoranteno + 9,10-dimetil-fluoranteno + 10,11-dimetil-fluoranteno + 11,12-dimetil-fluoranteno + 12,13-dimetil-fluoranteno + 13,14-dimetil-fluoranteno + 14,15-dimetil-fluoranteno + 15,16-dimetil-fluoranteno + 16,17-dimetil-fluoranteno + 17,18-dimetil-fluoranteno + 18,19-dimetil-fluoranteno + 19,20-dimetil-fluoranteno + 21,22-dimetil-fluoranteno + 23,24-dimetil-fluoranteno + 25,26-dimetil-fluoranteno + 27,28-dimetil-fluoranteno + 29,30-dimetil-fluoranteno + 31,32-dimetil-fluoranteno + 33,34-dimetil-fluoranteno + 35,36-dimetil-fluoranteno + 37,38-dimetil-fluoranteno + 39,40-dimetil-fluoranteno + 41,42-dimetil-fluoranteno + 43,44-dimetil-fluoranteno + 45,46-dimetil-fluoranteno + 47,48-dimetil-fluoranteno + 49,50-dimetil-fluoranteno + 51,52-dimetil-fluoranteno + 53,54-dimetil-fluoranteno + 55,56-dimetil-fluoranteno + 57,58-dimetil-fluoranteno + 59,60-dimetil-fluoranteno + 61,62-dimetil-fluoranteno + 63,64-dimetil-fluoranteno + 65,66-dimetil-fluoranteno + 67,68-dimetil-fluoranteno + 69,70-dimetil-fluoranteno + 71,72-dimetil-fluoranteno + 73,74-dimetil-fluoranteno + 75,76-dimetil-fluoranteno + 77,78-dimetil-fluoranteno + 79,80-dimetil-fluoranteno + 81,82-dimetil-fluoranteno + 83,84-dimetil-fluoranteno + 85,86-dimetil-fluoranteno + 87,88-dimetil-fluoranteno + 89,90-dimetil-fluoranteno + 91,92-dimetil-fluoranteno + 93,94-dimetil-fluoranteno + 95,96-dimetil-fluoranteno + 97,98-dimetil-fluoranteno + 99,100-dimetil-fluoranteno + 101,102-dimetil-fluoranteno + 103,104-dimetil-fluoranteno + 105,106-dimetil-fluoranteno + 107,108-dimetil-fluoranteno + 109,110-dimetil-fluoranteno + 111,112-dimetil-fluoranteno + 113,114-dimetil-fluoranteno + 115,116-dimetil-fluoranteno + 117,118-dimetil-fluoranteno + 119,120-dimetil-fluoranteno + 121,122-dimetil-fluoranteno + 123,124-dimetil-fluoranteno + 125,126-dimetil-fluoranteno + 127,128-dimetil-fluoranteno + 129,130-dimetil-fluoranteno + 131,132-dimetil-fluoranteno + 133,134-dimetil-fluoranteno + 135,136-dimetil-fluoranteno + 137,138-dimetil-fluoranteno + 139,140-dimetil-fluoranteno + 141,142-dimetil-fluoranteno + 143,144-dimetil-fluoranteno + 145,146-dimetil-fluoranteno + 147,148-dimetil-fluoranteno + 149,150-dimetil-fluoranteno + 151,152-dimetil-fluoranteno + 153,154-dimetil-fluoranteno + 155,156-dimetil-fluoranteno + 157,158-dimetil-fluoranteno + 159,160-dimetil-fluoranteno + 161,162-dimetil-fluoranteno + 163,164-dimetil-fluoranteno + 165,166-dimetil-fluoranteno + 167,168-dimetil-fluoranteno + 169,170-dimetil-fluoranteno + 171,172-dimetil-fluoranteno + 173,174-dimetil-fluoranteno + 175,176-dimetil-fluoranteno + 177,178-dimetil-fluoranteno + 179,180-dimetil-fluoranteno + 181,182-dimetil-fluoranteno + 183,184-dimetil-fluoranteno + 185,186-dimetil-fluoranteno + 187,188-dimetil-fluoranteno + 189,190-dimetil-fluoranteno + 191,192-dimetil-fluoranteno + 193,194-dimetil-fluoranteno + 195,196-dimetil-fluoranteno + 197,198-dimetil-fluoranteno + 199,200-dimetil-fluoranteno + 201,202-dimetil-fluoranteno + 203,204-dimetil-fluoranteno + 205,206-dimetil-fluoranteno + 207,208-dimetil-fluoranteno + 209,210-dimetil-fluoranteno + 211,212-dimetil-fluoranteno + 213,214-dimetil-fluoranteno + 215,216-dimetil-fluoranteno + 217,218-dimetil-fluoranteno + 219,220-dimetil-fluoranteno + 221,222-dimetil-fluoranteno + 223,224-dimetil-fluoranteno + 225,226-dimetil-fluoranteno + 227,228-dimetil-fluoranteno + 229,230-dimetil-fluoranteno + 231,232-dimetil-fluoranteno + 233,234-dimetil-fluoranteno + 235,236-dimetil-fluoranteno + 237,238-dimetil-fluoranteno + 239,240-dimetil-fluoranteno + 241,242-dimetil-fluoranteno + 243,244-dimetil-fluoranteno + 245,246-dimetil-fluoranteno + 247,248-dimetil-fluoranteno + 249,250-dimetil-fluoranteno + 251,252-dimetil-fluoranteno + 253,254-dimetil-fluoranteno + 255,256-dimetil-fluoranteno + 257,258-dimetil-fluoranteno + 259,260-dimetil-fluoranteno + 261,262-dimetil-fluoranteno + 263,264-dimetil-fluoranteno + 265,266-dimetil-fluoranteno + 267,268-dimetil-fluoranteno + 269,270-dimetil-fluoranteno + 271,272-dimetil-fluoranteno + 273,274-dimetil-fluoranteno + 275,276-dimetil-fluoranteno + 277,278-dimetil-fluoranteno + 279,280-dimetil-fluoranteno + 281,282-dimetil-fluoranteno + 283,284-dimetil-fluoranteno + 285,286-dimetil-fluoranteno + 287,288-dimetil-fluoranteno + 289,290-dimetil-fluoranteno + 291,292-dimetil-fluoranteno + 293,294-dimetil-fluoranteno + 295,296-dimetil-fluoranteno + 297,298-dimetil-fluoranteno + 299,300-dimetil-fluoranteno + 301,302-dimetil-fluoranteno + 303,304-dimetil-fluoranteno + 305,306-dimetil-fluoranteno + 307,308-dimetil-fluoranteno + 309,310-dimetil-fluoranteno + 311,312-dimetil-fluoranteno + 313,314-dimetil-fluoranteno + 315,316-dimetil-fluoranteno + 317,318-dimetil-fluoranteno + 319,320-dimetil-fluoranteno + 321,322-dimetil-fluoranteno + 323,324-dimetil-fluoranteno + 325,326-dimetil-fluoranteno + 327,328-dimetil-fluoranteno + 329,330-dimetil-fluoranteno + 331,332-dimetil-fluoranteno + 333,334-dimetil-fluoranteno + 335,336-dimetil-fluoranteno + 337,338-dimetil-fluoranteno + 339,340-dimetil-fluoranteno + 341,342-dimetil-fluoranteno + 343,344-dimetil-fluoranteno + 345,346-dimetil-fluoranteno + 347,348-dimetil-fluoranteno + 349,350-dimetil-fluoranteno + 351,352-dimetil-fluoranteno + 353,354-dimetil-fluoranteno + 355,356-dimetil-fluoranteno + 357,358-dimetil-fluoranteno + 359,360-dimetil-fluoranteno + 361,362-dimetil-fluoranteno + 363,364-dimetil-fluoranteno + 365,366-dimetil-fluoranteno + 367,368-dimetil-fluoranteno + 369,370-dimetil-fluoranteno + 371,372-dimetil-fluoranteno + 373,374-dimetil-fluoranteno + 375,376-dimetil-fluoranteno + 377,378-dimetil-fluoranteno + 379,380-dimetil-fluoranteno + 381,382-dimetil-fluoranteno + 383,384-dimetil-fluoranteno + 385,386-dimetil-fluoranteno + 387,388-dimetil-fluoranteno + 389,390-dimetil-fluoranteno + 391,392-dimetil-fluoranteno + 393,394-dimetil-fluoranteno + 395,396-dimetil-fluoranteno + 397,398-dimetil-fluoranteno + 399,400-dimetil-fluoranteno + 401,402-dimetil-fluoranteno + 403,404-dimetil-fluoranteno + 405,406-dimetil-fluoranteno + 407,408-dimetil-fluoranteno + 409,410-dimetil-fluoranteno + 411,412-dimetil-fluoranteno + 413,414-dimetil-fluoranteno + 415,416-dimetil-fluoranteno + 417,418-dimetil-fluoranteno + 419,420-dimetil-fluoranteno + 421,422-dimetil-fluoranteno + 423,424-dimetil-fluoranteno + 425,426-dimetil-fluoranteno + 427,428-dimetil-fluoranteno + 429,430-dimetil-fluoranteno + 431,432-dimetil-fluoranteno + 433,434-dimetil-fluoranteno + 435,436-dimetil-fluoranteno + 437,438-dimetil-fluoranteno + 439,440-dimetil-fluoranteno + 441,442-dimetil-fluoranteno + 443,444-dimetil-fluoranteno + 445,446-dimetil-fluoranteno + 447,448-dimetil-fluoranteno + 449,450-dimetil-fluoranteno + 451,452-dimetil-fluoranteno + 453,454-dimetil-fluoranteno + 455,456-dimetil-fluoranteno + 457,458-dimetil-fluoranteno + 459,460-dimetil-fluoranteno + 461,462-dimetil-fluoranteno + 463,464-dimetil-fluoranteno + 465,466-dimetil-fluoranteno + 467,468-dimetil-fluoranteno + 469,470-dimetil-fluoranteno + 471,472-dimetil-fluoranteno + 473,474-dimetil-fluoranteno + 475,476-dimetil-fluoranteno + 477,478-dimetil-fluoranteno + 479,480-dimetil-fluoranteno + 481,482-dimetil-fluoranteno + 483,484-dimetil-fluoranteno + 485,486-dimetil-fluoranteno + 487,488-dimetil-fluoranteno + 489,490-dimetil-fluoranteno + 491,492-dimetil-fluoranteno + 493,494-dimetil-fluoranteno + 495,496-dimetil-fluoranteno + 497,498-dimetil-fluoranteno + 499,500-dimetil-fluoranteno + 501,502-dimetil-fluoranteno + 503,504-dimetil-fluoranteno + 505,506-dimetil-fluoranteno + 507,508-dimetil-fluoranteno + 509,510-dimetil-fluoranteno + 511,512-dimetil-fluoranteno + 513,514-dimetil-fluoranteno + 515,516-dimetil-fluoranteno + 517,518-dimetil-fluoranteno + 519,520-dimetil-fluoranteno + 521,522-dimetil-fluoranteno + 523,524-dimetil-fluoranteno + 525,526-dimetil-fluoranteno + 527,528-dimetil-fluoranteno + 529,530-dimetil-fluoranteno + 531,532-dimetil-fluoranteno + 533,534-dimetil-fluoranteno + 535,536-dimetil-fluoranteno + 537,538-dimetil-fluoranteno + 539,540-dimetil-fluoranteno + 541,542-dimetil-fluoranteno + 543,544-dimetil-fluoranteno + 545,546-dimetil-fluoranteno + 547,548-dimetil-fluoranteno + 549,550-dimetil-fluoranteno + 551,552-dimetil-fluoranteno + 553,554-dimetil-fluoranteno + 555,556-dimetil-fluoranteno + 557,558-dimetil-fluoranteno + 559,560-dimetil-fluoranteno + 561,562-dimetil-fluoranteno + 563,564-dimetil-fluoranteno + 565,566-dimetil-fluoranteno + 567,568-dimetil-fluoranteno + 569,570-dimetil-fluoranteno + 571,572-dimetil-fluoranteno + 573,574-dimetil-fluoranteno + 575,576-dimetil-fluoranteno + 577,578-dimetil-fluoranteno + 579,580-dimetil-fluoranteno + 581,582-dimetil-fluoranteno + 583,584-dimetil-fluoranteno + 585,586-dimetil-fluoranteno + 587,588-dimetil-fluoranteno + 589,590-dimetil-fluoranteno + 591,592-dimetil-fluoranteno + 593,594-dimetil-fluoranteno + 595,596-dimetil-fluoranteno + 597,598-dimetil-fluoranteno + 599,600-dimetil-fluoranteno + 601,602-dimetil-fluoranteno + 603,604-dimetil-fluoranteno + 605,606-dimetil-fluoranteno + 607,608-dimetil-fluoranteno + 609,610-dimetil-fluoranteno + 611,612-dimetil-fluoranteno + 613,614-dimetil-fluoranteno + 615,616-dimetil-fluoranteno + 617,618-dimetil-fluoranteno + 619,620-dimetil-fluoranteno + 621,622-dimetil-fluoranteno + 623,624-dimetil-fluoranteno + 625,626-dimetil-fluoranteno + 627,628-dimetil-fluoranteno + 629,630-dimetil-fluoranteno + 631,632-dimetil-fluoranteno + 633,634-dimetil-fluoranteno + 635,636-dimetil-fluoranteno + 637,638-dimetil-fluoranteno + 639,640-dimetil-fluoranteno + 641,642-dimetil-fluoranteno + 643,644-dimetil-fluoranteno + 645,646-dimetil-fluoranteno + 647,648-dimetil-fluoranteno + 649,650-dimetil-fluoranteno + 651,652-dimetil-fluoranteno + 653,654-dimetil-fluoranteno + 655,656-dimetil-fluoranteno + 657,658-dimetil-fluoranteno + 659,660-dimetil-fluoranteno + 661,662-dimetil-fluoranteno + 663,664-dimetil-fluoranteno + 665,666-dimetil-fluoranteno + 667,668-dimetil-fluoranteno + 669,670-dimetil-fluoranteno + 671,672-dimetil-fluoranteno + 673,674-dimetil-fluoranteno + 675,676-dimetil-fluoranteno + 677,678-dimetil-fluoranteno + 679,680-dimetil-fluoranteno + 681,682-dimetil-fluoranteno + 683,684-dimetil-fluoranteno + 685,686-dimetil-fluoranteno + 687,688-dimetil-fluoranteno + 689,690-dimetil-fluoranteno + 691,692-dimetil-fluoranteno + 693,694-dimetil-fluoranteno + 695,696-dimetil-fluoranteno + 697,698-dimetil-fluoranteno + 699,700-dimetil-fluoranteno + 701,702-dimetil-fluoranteno + 703,704-dimetil-fluoranteno + 705,706-dimetil-fluoranteno + 707,708-dimetil-fluoranteno + 709,710-dimetil-fluoranteno + 711,712-dimetil-fluoranteno + 713,714-dimetil-fluoranteno + 715,716-dimetil-fluoranteno + 717,718-dimetil-fluoranteno + 719,720-dimetil-fluoranteno + 721,722-dimetil-fluoranteno + 723,724-dimetil-fluoranteno + 725,726-dimetil-fluoranteno + 727,728-dimetil-fluoranteno + 729,730-dimetil-fluoranteno + 731,732-dimetil-fluoranteno + 733,734-dimetil-fluoranteno + 735,736-dimetil-fluoranteno + 737,738-dimetil-fluoranteno + 739,740-dimetil-fluoranteno + 741,742-dimetil-fluoranteno + 743,744-dimetil-fluoranteno + 745,746-dimetil-fluoranteno + 747,748-dimetil-fluoranteno + 749,750-dimetil-fluoranteno + 751,752-dimetil-fluoranteno + 753,754-dimetil-fluoranteno + 755,756-dimetil-fluoranteno + 757,758-dimetil-fluoranteno + 759,760-dimetil-fluoranteno + 761,762-dimetil-fluoranteno + 763,764-dimetil-fluoranteno + 765,766-dimetil-fluoranteno + 767,768-dimetil-fluoranteno + 769,770-dimetil-flu

Tabela 11: Concentrações de somas de CPAs em sedimentos (ng.g^{-1} , peso seco) e na solução de petróleo (ng.g^{-1}) e suas razões

Compostos e razões	Petróleo	2005			2001			
		00 (0,0 - 0,1m)	20 (0,2 - 0,3m)	40 (0,4 - 0,5m)	00 (0,0 - 0,1m)	20 (0,2 - 0,3m)	40 (0,4 - 0,5m)	
Σ CPA	47.063,5	366,5	242,1	83,0	538,1	300,9	546,5	Ponto 1
Σ CPA (exceto perileno)	47.063,5	316,0	198,8	20,0	437,7	242,9	101,7	
Σ 2-3	45.355,6	74,0	46,1	6,5	114,3	89,4	74,2	
Σ 4-6 (exceto perileno)	1.707,9	242,0	152,6	13,5	323,4	153,4	27,4	
Σ 2-3/ Σ 4-6 (exceto perileno)	26,56	0,31	0,30	0,48	0,35	0,58	2,70	
Σ CPAs - não alq.	6.469,7	292,0	212,7	83,0	362,2	235,4	514,6	
Σ CPAs - não alq. (exceto perileno)	6.469,7	241,5	169,4	20,0	261,8	177,4	69,8	
Σ CPAs – alq.	40.593,8	74,5	29,3	n.d	175,8	65,5	31,8	
Perileno/CPA - não alq	n.c	0,17	0,20	0,76	0,28	0,25	0,86	
Σ CPA	47.063,5	990,9	94,8	189,5	740,0	487,2	106,4	Ponto 2
Σ CPA (exceto perileno)	47.063,5	990,9	68,7	20,5	719,2	472,8	60,8	
Σ 2-3	45.355,6	117,9	31,0	2,0	72,20	81,0	24,6	
Σ 4-6 (exceto perileno)	1.707,9	872,9	37,6	18,5	647,0	391,8	36,2	
Σ 2-3/ Σ 4-6 (exceto perileno)	26,56	0,14	0,83	0,11	0,11	0,21	0,68	
Σ CPAs - não alq.	6.469,7	431,0	83,3	185,0	248,9	177,3	79,3	
Σ CPAs - não alq. (exceto perileno)	6.469,7	431,0	57,1	16,0	228,1	163,0	33,7	
Σ CPAs – alq.	40.593,8	559,9	11,5	4,5	491,0	309,8	27,1	
Perileno/CPA - não alq	n.c	n.c	0,31	0,91	0,08	0,08	0,57	
Σ CPA	47.063,5	538,7	333,	189,4	n.c.	1.254,9	304,4	Ponto 3
Σ CPA (exceto perileno)	47.063,5	388,7	83,9	44,1	n.c.	1.209,6	240,8	
Σ 2-3	45.355,6	71,4	15,3	12,8	n.c.	400,5	129,3	
Σ 4-6 (exceto perileno)	1.707,9	317,2	68,6	31,2	n.c.	809,0	111,4	
Σ 2-3/ Σ 4-6 (exceto perileno)	26,56	0,23	0,22	0,41	n.c.	0,50	1,16	
Σ CPAs - não alq.	6.469,7	313,6	328,6	186,7	n.c.	288,2	230,5	
Σ CPAs - não alq. (exceto perileno)	6.469,7	163,6	79,2	41,4	n.c.	243,0	166,9	
Σ CPAs – alq.	40.593,8	225,1	4,6	2,6	n.c.	966,5	73,8	
Perileno/CPA - não alq	n.c	0,48	0,76	0,78	n.c.	0,16	0,28	

alq. = alquilados; n.d. = não detectados; n.c. = não calculado; Σ CPA = concentração total de CPAs; Σ CPA (exceto perileno) = concentração total de CPAs (exceto perileno); Σ 2-3 = concentração total de CPAs contendo 2 e 3 anéis aromáticos; Σ 4-6 (exceto perileno) = concentração total de CPAs contendo 4 e 6 anéis (exceto perileno)

Para a grande maioria das amostras, a concentração de perileno encontrada foi muito superior a 10% da concentração total dos CPAs não alquilados confirmando a fonte biogênica para a introdução deste composto no ambiente (Colombo, 1989). Somente as amostras P2-10 e , P2-20 de 2001 as concentrações foram ligeiramente menores que 10% do total de CPAs não alquilados.

Devido a grande predominância de perileno de origem biogênica, este composto foi excluído no total de CPAs (total de CPAs – exceto perileno), variando a concentração de $20,0\text{ng.g}^{-1}$ até $1209,6\text{ng.g}^{-1}$, conforme demonstra a Figura 37.

Figura 37: Concentração de total de CPAs (exceto perileno)

Para a maioria das amostras houve uma redução das concentrações de total de CPAs (exceto perileno), tanto na profundidade quanto no aspecto temporal. Somente na amostra P2-00 não houve uma redução da concentração de total de CPAs (exceto o perileno) entre os anos de 2005 e 2001.

Em sua grande maioria, os valores para a razão $\Sigma 2-3/\Sigma 4-6$ (exceto perileno) foram menores que 1,0; no P1-40 e P3-40 de 2001 apresentaram valor acima de 1,0 (2,70 e 1,16 respectivamente).

A Figura 38 ilustra o predomínio dos CPAs de 4 – 6 anéis (exceto perileno) sobre os de 2 – 3 anéis e a Figura 39 a razão $\Sigma 2-3/\Sigma 4-6$ (exceto perileno).

Figura 38: Concentração de total de CPAs de 2-3 anéis e de 4 – 6 anéis (exceto perileno)

Figura 39: Razão $\Sigma 2-3 / \Sigma 4-6$ (exceto perileno)

Devido aos processos de degradação que o petróleo está sujeito a partir do momento em que é introduzido no ambiente marinho, os seus compostos aromáticos mais leves (com até 3 anéis aromáticos) começam sofrer diversos processos de degradação, diminuindo significativamente suas concentrações no sedimento (Bouloubassi & Saliot, 1993), o petróleo original do derramamento tinha uma razão $\Sigma 2-3/\Sigma 4-6$ (exceto perileno) de 26,56.

Esta maior concentração de aromáticos com mais de 3 anéis aromáticos causam os efeitos mais duradouros e crônicos (Spies et al., 1996). Segundo Clark & Finley (1982) os efeitos crônicos são mais significativos que os efeitos imediatos gerados pelos aromáticos de até 3 anéis aromáticos.

Vários CPAs alquil-substituídos apresentaram-se com níveis quantificáveis nas amostras; apenas a concentração de P1-40 em 2005 não atingiu o limite de detecção, demonstrando a presença de compostos aromáticos de contribuição petrogênicas. A Figura 40 ilustra esta situação.

Figura 40: Concentração total dos CPAs alquilados

Ao longo de cada testemunho individualmente, a partir do topo para a base, é verificado uma redução na concentração dos CPAs alquilados. Quando a

comparação das amostra é feita em relação à época da coleta, apenas na amostra P2-00 não se verifica uma redução entre os anos, este mesmo fato também ocorreu na concentração dos biomarcadores.

A maior concentração de aromáticos mais pesados (acima de 3 anéis aromáticos condensados) e a presença de aromáticos alquilados sugerem, introdução predominantemente petrogênica para os CPAs (Wang et al., 1999; Bouloubassi & Saliot, 1993).

Devido a potencial toxicidade dos CPAs para organismos, que podem bioacumulá-los e sofrer efeitos mutagênicos e carcinogênicos (Giessing et al., 2003; IARC, 1983; Larsen, 1995) estes compostos são importantes para a identificação do dano ambiental.

Tanto no caso dos CPAs, como no caso dos biomarcadores as maiores concentrações se localizam na profundidade 00 (0-10cm), demonstrando uma maior presença do óleo. Da mesma forma que foi observado para os biomarcadores de petróleo, os CPAs se concentram principalmente nas camadas de 0-10 cm o que deve ser por causa da taxa de sedimentação (Santa-Cruz, 2004).

VI - CONCLUSÕES

As quantificações dos hidrocarbonetos em sedimentos coletados no mangue de Bertioga, no local do derrame de 1983, assim como a análise do óleo derramado permitiu concluir:

O ponto onde foram observadas as maiores concentrações foi o Ponto 3 que é o ponto mais próximo do local onde rompeu o oleoduto. O Ponto 1 foi onde ocorreu as menores concentrações. Este é o ponto mais distante do local do derrame e também por ser próximo ao Rio Iriri é ambiente de alta energia, com grande atuação da maré, ao contrário do Ponto 3 que é um ambiente de baixa energia, com pequena atuação da maré.

Com relação ao aspecto temporal (2001-2005), percebe-se uma redução na concentração de petróleo nos sedimentos.

Como prova da existência do petróleo nos sedimentos no mangue, para as questões jurídicas, a análise dos biomarcadores foi de extrema relevância, pois conseguiu identificar a presença de petróleo em todas as amostras de sedimentos, o que não ocorreu com a análise dos n-alcanos e alcanos isoprenóides, devido a região receber uma grande contribuição biogênica do mangue.

Apenas em algumas amostras foi verificado a presença de petróleo através da UCM.

Outro fato importante, das análises dos biomarcadores, foi a identificação do petróleo derramado em 1983 ser o mesmo presente nos sedimentos atuais, possibilitando a formação do nexo causal.

A análise dos hidrocarbonetos alifáticos não forneceu nenhuma informação a mais por causa da presença de hidrocarbonetos biogênicos muito comuns na região do mangue.

A análise dos CPAs com a identificação de compostos mutagênicos e carcinogênicos também mostra-se importante por levantar a hipótese que o dano ambiental ainda persiste.

Como conclusão final, a análise de biomarcadores, e de CPAs, são suficientes para a elaboração de provas em um processo jurídico de

derramamento de petróleo em mangue e utiliza um equipamento - cromatógrafo a gás acoplado com um espectrômetro de massa de impacto de elétrons (GC-MS).

Considerações Finais

Como continuidade desse trabalho seria interessante realizar novas amostragens de sedimentos no local nos próximos anos para estimar o tempo real da atuação do derrame.

Os resultados desse trabalho, embora tenham sido muito importante, indicaram que uma avaliação continua desde a época do derrame teria rendido dados muito mais completo. Por este motivo sugere-se que os casos de derrame sejam acompanhados desde o início e em longo prazo.

Sugere-se também que os trabalhos acadêmicos passem a ser mais divulgados em instituições jurídicas para sua utilização.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aboul-Kassim, T.A.T.; Simoneit, B.R.T. 1996. Lipid geochemistry of superficial sediments from the coastal environment of Egypt. I. Aliphatic hydrocarbons – characterization and sources. *Mar. Chem.*, 54:135-158.

Albaigés, J. 1980. Fingerprint petroleum pollutants in the Mediterranean Sea. In Albaigés, J., ed *Analytical techniques in environmental chemistry*. New York, Pergamon Press. p. 69-81.

Aquino Neto, F.R.; Trendel, J.M.; Restle, A.; Connan, J.; Albrecht, P.A. 1981. Occurrence and formation of tricycle and tetracyclic terpanes in sediments and petroleum. In: BJOROY, M. et al. (Ed.), *Adv. in org. geochemistry*. Wiley and Sons, London, pp. 659-667.

Atlas, R.M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environment perspective. *Microbiology Reviews*, v.45, p.180-209.

Atlas, R.M. 1981. Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. *Marine Pollution Bulletin*, v.31, p. 178-182, 1995.

Atlas, R.M; Bartha, R. 1992. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. *Advances in Microbial Ecology*, v.12, p.287-338.

Baker, J.M.; Guzman, L.; Bartlett, P.D.; Little, D.I.; Wilson, C.M. 1993. Long-term fate and effects of untreated thick oil deposits on salt marshes. In: *The 1993 International Oil Spill Conference*, Washington, 1993. *Proceeding*. Washington: American Petroleum Institute Publication. p.395-399.

Baumann, P. C. 1989. In: *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment*, CRC Press, Florida, 341 pp., cap. 8.

Benjamin, A.H.V. 1998. Responsabilidade civil em dano ambiental. *Revista de Direito Ambiental*. São Paulo, v.9.

Bícego, M. C. 1996. Alguns aspectos sobre a degradação fotoquímica e a determinação de hidrocarbonetos do petróleo no ambiente marinho. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto de Química, 112 pp.

Bienert, R.W.; Pearson, W.H. 1995. Application of ecological risk assessment principles to questions of oil exposure in Pacific herring following the Exxon Valdez spill. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences, n. 2060, p.219-225.

Blumer, M.; Youngblood, N. W. 1975. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and recent sediments. Science, N.Y.,188:53-55.

Blumer, M.; Guilard, R.R.L. & Chase, T. 1971. Hydrocarbons of Marine phytoplankton. Mar. Biol., 8:183-189.

Bouloubassi, I.; Saliot, A. 1993. Investigation of anthropogenic and natural organic inputs in estuarine sediments using hydrocarbon markers (NAH, LAB, PAH). *Oceanologica Acta*, 16(2): 145-161.

Bouloubassi, I. 1990. Aspects de la biogéochimie des hydrocarbures non aromatiques et aromatiques dans la colonne d'eau et les sediments du milieu côtier: cas du delta du Rhône. Thèse de Doctorat, Université Paris 6, France, 344 p.

Braddock,J.F.; Lindstrom,J.E.; Yeager, T.R.; Rasley, B.T.; Brown, E.J. 1996. Patterns of microbial activity in oiled and unoled sediments in Prince Willian Sound. In: EXXON VALDEZ. Proceedings of Exxon Valdez oil spill symposium. Bethesda: American Fisheries Society. v.18, p. 94-108.

BRASIL. 1983. Departamento Nacional da Produção Mineral. Projeto RADAMBRASIL: folha SF 23/24. Rio de Janeiro/Vitória; geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação, e uso potencial da terra. Rio de Janeiro: D.N.P.M. 780p.

Bue, B.G.; Sharr, S.; Seeb, J.E. 1998. Evidence of damage to pink salmon populations inhabiting Prince William Sound, Alaska, two generations after the Exxon Valdez oil spill. *Transactions of the American Fisheries Society*, v.127, p.35-43.

Caldicott, A.B.; Eglinton, G. 1973. Surface waxes. In: Milier, L.P., ed. *Phytochemistry, III Inorganic elements and special groups of chemicals*. New York, Van Nostrand — Reinhold. p. 162-194.

Clark Jr., R.C. & Blumer, M. 1967. Distribution of n-paraffin in marine organisms and sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 12:79-87.

Clark Jr., R.C. & Brown, D.W. 1977. Petroleum properties and analyses in biotic and abiotic systems. In: Malis, D.C., ed. *Effects of petroleum on Arctic and Sub arctic marine environments in organisms*. V.1. Nature and fate of petroleum. New York, Academic Press. P. 1-89.

Clark, R.C.; Finley, J.S. 1982. Occurrence and impact of petroleum on Arctic environments. In: REY, L. (Ed.). *The Arctic Ocean – the hydrographic environment and the fate of pollutants*. New York: John Wiley. p.295-314.

Clarke, P.J.; Ward, T.J. 1994. The response of southern hemisphere salt marsh plants and gastropods to experimental contamination by petroleum hydrocarbons. *Journal of Experimental Marine biology and Ecology*, v.175, p.43-57.

Colombo, J.C.; Pelletier, E.; Brochu, C.; Khalil, M.; Catoggio, J.A. 1989. Determination of hydrocarbons sources using n-alkane and poly aromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de la Plata estuary, Argentina. *Environ. Sci. Technol.*, 23(7): 888-894.

Cury, J.C. 2002. *Atividade Microbiana e Diversidades Metabólica e Genética em Solo de mangue contaminado com Petróleo*. Piracicaba. 84p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Denoux, G.; Wang, B. 1998. Quantitative determination of polynuclear aromatic hydrocarbons by gas chromatography/mass spectrometry using the selected ion monitoring mode. Geochemical and Environmental Research Group, Standard Operating Procedures (SOP-9810), Texas A & M University, 28 p.

Denoux, G.; Gardinali, P.; Wade, T.L. 1998. Quantitative determination of nuclear aromatic hydrocarbons by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) – Selected Ion Monitoring (SIM) mode. LAUENSTEIN, G. G. & A. Y. CANTILLO (Eds.) In: NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 130, National Status and Trends Program for Marine Environmental Quality, NOAA, US DoC, 129-139.

Eglington, G.; Gonzalez, J.; Hamilton, R.J.; Raphael, R. A. 1962. Hydrocarbons constituents of wax coating of plants leaves. A taxonomic survey. *Phytochemistry*, 1:89-109.

Eglington, G.; Hamilton, R.J. 1967. Leaf apicuticular waxes. *Science*, 156: 1322-1334.

Escartín, E. & Porte, C. 1999. Assessment of PAC Pollution in Coastal Areas from the NW Mediterranean through the Analysis of Fish Bile. *Mar. Pollut. Bull.*, 38(12): 1200-1206.

Figueiredo, L.H.M., 1999. Investigação das Contribuições Orgânicas Antrópicas e Naturais em Sedimentos Costeiros Utilizando-se Hidrocarbonetos Marcadores. Tese de Doutorado. Pontifica Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. 149 p.

Floodgate, G.D. 1995. Some environment aspects of marine hydrocarbon bacteriology. *Aquatic Microbial Ecology*, v.9, p.3-11

Freitas, S, G. P. 2001. Ilícito Penal Ambiental e Reparação de Dano. Editora Revista dos Tribunais. São Paulo.

Gamero, R.M.P. Mineralogia, físico-química e classificação dos solos de mangue do Rio Iriri no Canal de Bertioga (Santos, SP). Piracicaba. 76p. Dissertação

(Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Gassman, G. 1981. Chromatographic separation of diastereomeric isoprenoids for the identification of fossil oil contamination. *Mar. Pollut. Bull.*, 12(3): 78-84.

Giessing, A. M. B.; L. M. Mayer & T. L. FORBES, 2003. Synchronous Fluorescence Spectrometry of 1-hydroxypyrene: a rapid screening method for identification of PAC exposure in tissue from marine polychaetes. *Mar. Environ. Res.*, 56: 599-615.

Getter, C.D.; Scott, G.I.; Michel, J. 1981. The effects of oils spills on mangrove forests: a comparison of five oil spill sites in the Gulf of México and the Caribbean Sea. In: THE 1981 OIL SPILL CONFERENCE, Baltimore. Proceedings. Washington: American Petroleum Institute. p.535-540.

Gough, M. A.; Rowland, S.J. 1990. Characterization of unresolved complex mixtures of hydrocarbons in petroleum. *Nature*, 344: 648-650.

Gschwend, P. M.; Hites, R. A. 1981. Fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons to marine and lacustrine sediments in the northeastern United States. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 45: 2359-2367.

Gulkel, W.; Gassmann, G. 1980. Hydrocarbons and hydrocarbons degradation in the marine environment including some considerations of the water-sediment interphase. In: BIOGÉOCHIMIE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE A L'INTERFACE EAU-SÉDIMENT MARIN, Marseille. 1979 Paris, CNRS. p. 301-308. (Colloques Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique, n 293).

Hauser, A.; Dashti, H.; Khan, Z.H. 1999. Identification of biomarker compounds in selected Kuwait crude oils. *Fuel*, 78:1483-1488.

Hong, H.; Xu, L.; Zhang, L.; Chen, J.C.; Wong, Y.S.; Wan, T.S.M. 1995. Environmental fate and chemistry of organic pollutants in the sediment of Xiamen and Victoria Harbours. *Mar. Pollut. Bull.*, 31: 229-236.

Housaiss, A; Villar, M.S. 2001. Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa. Objetiva. Rio de Janeiro. 3008p.

Hostettler, F.D.; Pereira, W.E.; Kvenvolden, K.A.; Geen, A.V.; Luoma, S.N.; Fuller, C.C.; Anima, R. 1999. A record of hydrocarbon input to San Francisco Bay as traced by biomarker profiles in surface sediment and sediment cores. *Mar. Chem.*, 64 (1-2): 115-127.

Howarth, R.W. 1991. Assessing the ecological effects of oil pollution from outer continental shelf oil development. *Transactions of American Fisheries Society*. V.11, p.1-8.

IPT. 1989. Carta Geotécnica do Município do Guarujá-SP. São Paulo: IPT; SCTDE. 115p. (Relatório Técnico, 27786)

IOC/UNEP (Intergovernmental Oceanographic Commission/United Nations Environment Programme). 1990. The determination of petroleum hydrocarbons in sediments. Manual and Guides n° 11, 96 pp.

IARC – International Agency for Research in Cancer, 1983. The monographs. In: Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear aromatic hydrocarbons, Part 1 – Chemical environmental and experimental data, IARC, Lyon, France, 32: 95-451.

IP. Institute of Petroleum. 1974. Marine pollution by oil. Oil pollution analysis. Committee. Essex. Applied Science. 197p.

ITOPF, 1987. Response Marine Oil Spill. Whiterby & The International Tanker Owners Pollution Federation (ITOPF). London, UK. 150 p.

Jacquot, F.; Dréau Y. ; Doumenq, P; Munoz, D.; Guiliano, M.; Imbert, G. ; Mille, G. 1999. The origins of hydrocarbons trapped in the lake of Berre sediments. *Chemosphere*, 39(9): 1407-1419.

Laframme, R.E.; Hites, R.A. 1978. The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42: 289-303.

Larsen, J. C. 1995. Levels of pollutants and their metabolites: exposures to organic substances. *Toxicology*, 101: 11-27.

Law, R. J.; Biscaya, J.L. 1994. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) – Problems and progress in sampling, analysis and interpretation. *Mar. Pollut. Bull.*, 29: 235-241.

Leahy, J.G.; Colwell, R.R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in environment. *Microbiology Reviews*, v.54, n.3 p.305-315.

Leiz, V. & Amaral, S.E. 1966. *Geologia Geral*. São Paulo. Editora Nacional. 512p.

Ludwing, F.J., 1965 Analyses of microcrystalline waxes by gas-liquid chromatography. *Analit. Chem.* 37: 1732-1738.

Luttembark, B. 1986. Glossário de engenharia ambiental, organizado por Brasília, Departamento Nacional da Produção Mineral.

Machado, A.L., 1992. Análise da Cobertura Vegetal de um manguezal impactado por óleo, Canal da Bertioga, Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humana. Departamento de Geografia. 135 p.

McElroy, A. E.; Farrington, J.W. & Teal, J.M. 1989. In: *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment*, CRC Press, Florida, 341 pp., cap. 1.

Menzie, C. A.; Potocki, B. B. & Santodonato, J. 1992. Exposure to carcinogenic PACs in the environment. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 1279-1284.

Michel, J. Adverse effects from oil. http://www.darcnw.noaa.gov/iad_apd.pdf (20.Abr.2005).

Moore, M.N.; Livingstone, D.R.; Widdows, J. 1989. In: *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment*, CRC Press, Florida, 341 pp., cap. 9.

Moreira, I.V.D 1990. *Vocabulário básico do meio ambiente*. Rio de Janeiro, Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente.

Munoz, D.; Doumenq, P.; Guiliano, M.; Jacquot, F.; Scherrer, P. ; Mille, G. 1997. New approach to study of spilled crude oils using high resolution GC-MS (SIM) and metastable reaction monitoring GC-MS-MS. *Talanta*, 45: 1-12.

NAS. National Academy of Science 1975. *Petroleum in the marine environment*. Washington. D.C. 96p.

NOAA. Primary Restoration: Guidance document for natural resource damage assessment under the oil pollution act of 1990. 762p. <http://www.darcnw.noaa.gov/> (7.Abr.2005).

Nelson-Smith, A. 1982. Biological consequences of oil-spills in Artic waters. In: REY L. (Ed.). *The arctic ocean: the hydrographic environment and the fate of pollutants*. New York: John Wiley. p. 275-296.

Novelli, Y.S. 1986. *Relatório Técnico por Yara Schaeffer-Novelli Perito de Juízo. Medida Cautelar Antecipatória de Prova, 1ª VARA CÍVEL COMARCA DE SANTOS, SÃO PAULO BRASIL*

NRC (National Research Council). 1985. *Oil in the sea, inputs, fate and effects*. National Academy Press, Washington DC, 602 pp.

Philp, R. P. 1985. Fossil Fuel Biomarkers Application and Spectra. Methods in Geochemistry and Geophysics, 23. Elsevier, New York. N.Y. 294 p.

Rossi, M. 1999. Fatores formadores da paisagem litorânea: A Bacia do Guaratuba, São Paulo. 168 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Fisiologia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo.

Santa-Cruz, J. 2004. Foraminíferos Atuais em um Manguezal Impactado por Petróleo 20 anos atrás: O rio Iriri, Canal de Bertioga, Santos-SP. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, 142 pp.

Scherrer, P; Mille, G. 1989. Biodegradation of crude oil in an experimentally polluted peaty mangrove soil. Marine Pollution Bulletin, v20, n.9, p. 430-432.

Seifert, W. K. ; Moldowan, J. M. 1978. Applications of steranes, terpanes and monoaromatics to the maturation, migration and source of crude oils. Geochim. Cosmochim. Acta, 42: 77-95.

Silva, D.A.M. 2005. Avaliação da Contaminação por Petróleo no Canal de São Sebastião, São Paulo: Marcadores Geoquímicos e Metabólitos de Compostos Aromáticos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 137 pp.

Sloan, N.A. 2005. Oil Impacts on cold-water marine resources: a review relevant to Parks Canada's evolving marine mandate.
http://parkscanada.pch.gc.ca/library/DownloadDocuments/DocumentsArchive/occasional_paper11e.PDF (25 Abr.2005).

Speers, G.C.; Whitehead, E.V. 1969. Crude petroleum. In: Eglington, G. & Murphy, N.T.J., eds. Organic Geochemistry. Berlin, Springer — Verlag. p.638-675.

Spies, R.B.; Rice, S.D.; Wolfed. A.; Wright, B.A. 1996. The effects of the Exxon Valdez oil soil on the Alaskan coastal environment. In: EXXON VALDEZ

Proceedings of the Exxon Valdez oil spill symposium. Bethesda: American Fisheries Society Symposium. v.18, p.1-16.

Steinhauer, M. S.; Boehm, P.D. 1992. The composition and distribution of saturated and aromatic hydrocarbons in near shore sediments, river sediments, and coastal peat of Alaskan Beaufort Sea: implications for detecting anthropogenic hydrocarbon inputs. *Mar. environ. Res.*, 33: 223- 253.

Suchanek, T.H. 1993. Oil impacts on marine invertebrate populations and communities. *American Zoologist*, v.33, p.510-523.

Teal, J.M.; Farrington, J.W.; Burns, K.A.; Stegman, J.J.; Trip, B.W.; Woodin, B.; Phinney, C. 1992. The west Falmouth oil spill after 20 years: fate of fuel oil compounds and effects on animals. *Marine Pollution Bulletin*, v.24, p. 607-614.

UNEP (UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME), 1991. Determinations of petroleum hydrocarbons in sediment. Reference methods for marine pollution studies. n° 20: 97 p.

Varela, J.M.A. 1977. *Direito das obrigações. Forense*. Rio de Janeiro. 287p.

Venkatesan, M. I. 1988. Occurrence and possible source of perylene in marine sediments – A review. *Mar. Chem.*, 25: 1-27.

Volman, J.K.; Revill, A.T.; Murray A.P. 1997. In: *Molecular markers in environmental geochemistry*, ACS Symposium Series 671, American Chemical Society, Washington, DC, 426 pp., cap. 8.

Volkman, J. K.; Holdsworth, G.D.; Neill, G.P.; Bavor, H.J. 1992. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *Sci. Total Environment*, 112: 203-219.

Wakehan, S.G. 1996. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in Black Sea sediment. *Mar. Chem.*, 53:187-205.

Wang, Z.; Fingas, M. 1997. Developments in the analysis of petroleum hydrocarbons in soils, petroleum products and oil-spill-related environmental samples by gas chromatography. *J. Chromatog. A*, 774: 51-78.

Wang, Z.; Fingas, M.; Page, D.S. 1999. Oil spill identification. *J. Chromatog. A*, 843: 369-411.

ANEXOS

ANEXO 01

Cromatograma (mz/191) da fração F1 obtida em GC-MS para separação e quantificação dos terpanos e hopanos (Silva, 2005)

ANEXO 02

Cromatograma (m/z 217) da fração F1 obtida em GC-MS para separação e quantificação dos esteranos (Silva, 2005)

ANEXO 03

Cromatograma da fração F2 obtida em GC-MS para separação e quantificação dos CPAs (Silva, 2005)