



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
CURSO DE OCEANOGRAFIA

MARCIELLY FREITAS BEZERRA

**ESTERÓIS FECAIS UTILIZADOS COMO INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO
POR LANÇAMENTO DE ESGOTO - RIO PACOTI, CEARÁ.**

FORTALEZA

2013

MARCIELLY FREITAS BEZERRA

ESTERÓIS FECAIS UTILIZADOS COMO INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO POR
LANÇAMENTO DE ESGOTO - RIO PACOTI, CEARÁ.

Monografia apresentada ao Curso de graduação em Oceanografia do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Oceanografia.

Orientador: Prof. Dr. Rivelino M. Cavalcante

FORTALEZA

2013

Ac. 139947
Reg: 12106711

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

B469 Bezerra, Marcielly Freitas.
Esteróis fecais utilizados como indicadores de contaminação por lançamento de esgoto – Rio
Pacoti, Ceará / Marcielly Freitas Bezerra – 2013.
41 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Oceanografia,
Fortaleza, 2013.

Orientação: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.

1. Bacia hidrográfica - Contaminação. 2. Sedimentos fluviais e estuarinos. I. Título.

CDD 577.64

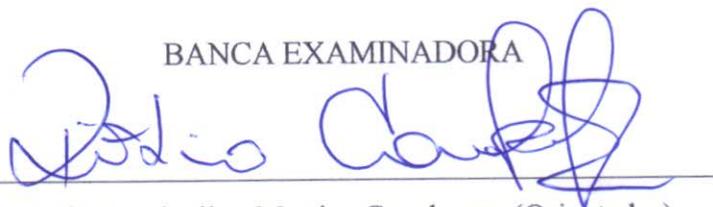
MARCIELLY FREITAS BEZERRA

ESTERÓIS FECAIS UTILIZADOS COMO INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO POR
LANÇAMENTO DE ESGOTO - RIO PACOTI, CEARÁ.

Monografia submetida à Coordenação do
Curso de Oceanografia, da Universidade
Federal do Ceará, como requisito para
obtenção do grau em Oceanografia.

Aprovada em 20/12/2013.

BANCA EXAMINADORA



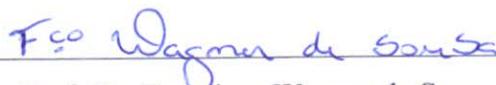
Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)



Prof. Dra. Ana Barbara de Araújo Nunes - Membro

Universidade Federal do Ceará (UFC)



Prof. Dr. Francisco Wagner de Sousa - Membro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

A Deus.

Aos meus pais, Edmar e Antônia.

À minha irmã, Julia.

Ao meu noivo, Augusto César Filho.

AGRADECIMENTOS

À Deus por está ao meu lado em todos os momentos, sempre me dando força, calma e determinação.

Aos meus pais, Edmar e Antônia, à minha irmã, Julia, à tia, Franciné, por todo amor, cuidado, paciência e união.

Ao meu noivo, Augusto César Filho, pelo amor, compreensão e paciência.

Ao Prof. Dr Rivelino Martins Cavalcante, pela excelente orientação.

Aos amigos do Laboratório de Análise de Contaminantes Orgânicos (LACOr), Pollyana, Gab, Allyne, Wersângela, Andrezão, Vitor, Camille, Lara, Melissa e Felipe, pela ajuda na realização do presente trabalho.

Ao Bruno Catunda pela ajuda com a confecção do mapa.

Aos amigos da minha turma de oceanografia por todo o companheirismo e amizade nesses quatro anos de curso, especialmente à Suzana, Ilanna, Natália, Lara, Nina, Raissinha, Gab, Biazinha, Thiago, Pedro Cabeção, Pedro Silveira, Alzira e Txai.

Ao professor Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento e alunos do Laboratório de Análises de Traços (LAT) da UFC.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições.

RESUMO

O despejo de esgotos sanitários em áreas costeiras ocorre frequentemente em locais que possuem urbanização rápida e sem desenvolvimento adequado na infraestrutura. O meio aquático receptor de efluentes contém sedimentos contaminados, através da acumulação de contaminantes; pode apresentar eutrofização, devido ao incremento de nutrientes; alterações na biodiversidade; danos à saúde humana; prejuízos ao turismo, à balneabilidade e às atividades pesqueiras. O 5 β -Colentan-3 β -ol (coprostanol) é o marcador molecular mais usado como indicador de poluição por esgotos de áreas costeiras devido à sua estabilidade ambiental e alta especificidade com a fonte. O trabalho foi feito no curso final do rio Pacoti, litoral leste do Ceará, nordeste do Brasil. A área de estudo apresenta grande urbanização e ausência de saneamento básico eficiente nos assentamentos urbanos próximos ao rio. Portanto, esse trabalho tem como objetivo principal avaliar o grau de contaminação promovido pelo lançamento de esgoto através da determinação de marcadores moleculares (esteróis fecais) por cromatografia a gás equipado com detector por espectrometria de massas. Foram realizadas amostragens de sedimento superficial em seis pontos da área de estudo. Em laboratório foram realizadas técnicas analíticas para a identificação e quantificação dos esteróis presentes no sedimento (extração, *clean-up*, derivatização e cromatografia) e para sua correlação com características sedimentológicas do local (granulometria e carbono orgânico). A concentração total de esteróis variou de 484,93 a 6155,29 ng/g e não apresentou correlação significativa com o material fino e matéria orgânica. Os esteróis mais abundantes foram o β -sitosterol e o estigmasterol, representando 49,6% e 16,5%, respectivamente, do total de esteróis encontrados. O coprostanol foi registrado em todos os pontos de coleta e sua concentração variou de 21,49 a 222,69 ng/g, mas as concentrações relatadas apresentam níveis mais baixos de contaminação quando comparados a outras regiões costeiras do mundo. O despejo de esgoto foi detectado através uso de índices derivados da relação entre a concentração de coprostanol e de outros compostos estruturalmente relacionados. Foi detectado tal despejo principalmente em regiões mais urbanizadas e esses níveis de contaminação podem ser atribuídos à parcela da população com serviços de saneamento inadequados.

Palavras-chave: Marcadores moleculares. Coprostanol. Sedimento superficial.

ABSTRACT

The discharge of sewage in coastal areas often occurs in places that have accelerated urbanization and development without an appropriate infrastructure. The environment receiver of effluents contains contaminated sediments, through the accumulation of contaminants; may present eutrophication due to increased nutrient; changes in biodiversity; damage to human health, tourism, bathing quality and fishing activities. The 5 β -Coprostan-3 β -ol (coprostanol) is the most widely used molecular marker as an indicator of pollution by sewage from coastal areas due to its environmental stability and high specificity with the source. The work was done at the end of the Pacoti River, the east coast of Ceará, northeastern Brazil. The study area has great urbanization and absence of efficient sanitation in urban settings near the river. So, this study aims evaluate the degree of contamination fostered by discharge of sewage through the determination of molecular markers (fecal sterols) by gas chromatography equipped with a mass spectrometry detector. Surface sediment sampling were taken in six points of the study area. In laboratory analytical techniques were done for the identification and quantification of sterols in the sediment (extraction, clean-up, derivatization and chromatography) and their correlation with sedimentological characteristics of the local (granulometry and organic carbon). The total sterols concentration varied from 484,93 to 6155,29 ng/g and showed no significant correlation with the fine material and organic matter. The most abundant sterols were β -sitosterol and stigmasterol, representing 49.6% and 16.5%, respectively, of the total sterol found. The coprostanol was recorded in all sampling sites and its concentration ranged from 21,49 to 222,69 ng/g, but concentrations have reported lower levels of contamination when compared to other coastal regions. The inputs of sewage were detected by use of diagnostic indices derived from the relationship between the concentration of coprostanol and other structurally related compounds. This discharge was detected mainly in the more urbanized regions and these levels of contamination can be attributed to the proportion of the population with inadequate sanitation.

Key words: Molecular markers. Coprostanol. Surface sediment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Pontos de amostragem de sedimentos superficiais no Rio Pacoti.....	18
Figura 2 - Imagens dos pontos de coleta.....	19
Figura 3 - Coluna de <i>clean up</i>	23
Figura 4 - Reação de derivatização.....	24
Figura 5 - Resultados da análise granulométrica.....	27

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Índices derivados da relação entre a concentração de coprostanol e de outros compostos estruturalmente relacionados.....	14
Tabela 2 - Caracterização dos esteróis presentes neste trabalho.....	22
Tabela 3 - Frações retiradas do extrato, solventes utilizados e compostos obtidos.....	23
Tabela 4 - Condições cromatográficas utilizadas para determinação dos esteróis.....	25
Tabela 5 - Identificação dos esteróis e dos padrões utilizados neste estudo.....	26
Tabela 6 - Teores de MO em cada ponto de coleta.....	28
Tabela 7 - Linearidade, LD e LQ do método cromatográfico do presente trabalho.....	28
Tabela 8 - Concentrações dos esteróis (ng/g) quantificados neste estudo em cada ponto de coleta.....	29
Tabela 9 - Faixas de concentração de coprostanol em sedimentos em vários sistemas aquáticos.....	31
Tabela 10 - Resultados dos índices utilizados neste estudo.....	32
Tabela 11 - Teor de esteróis totais, matéria orgânica e granulometria de cada ponto da área de estudo.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Marcadores Moleculares.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1	Área de estudo.....	16
3.2	Amostragem.....	17
3.3	Preparação das amostras.....	19
3.4	Análise granulométrica.....	20
3.5	Determinação de Carbono orgânico (CO) e Matéria Orgânica (MO).....	20
3.6	Determinação de esteróis.....	21
3.6.1	<i>Extração</i>	22
3.6.2	<i>Clean-up</i>	23
3.6.3	<i>Derivatização dos extratos</i>	24
3.6.4	<i>Identificação e quantificação dos esteróis</i>	24
3.6.5	<i>Controle de qualidade</i>	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1	Análise granulométrica.....	27
4.2	Matéria Orgânica.....	27
4.3	Figuras de mérito.....	28
4.4	Recuperação do padrão <i>surrogate</i>	29
4.5	Distribuição dos esteróis.....	29
4.6	Índices para diagnóstico ambiental do rio Pacoti.....	32
4.7	Correlações entre esteróis, granulometria e matéria orgânica.....	33
5	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

A zona costeira (ZC) é a zona de transição entre o ambiente terrestre e o ambiente marinho, desempenhando papel importante na ligação e nas trocas entre tais ambientes. É caracterizada pela elevada concentração de energia, sedimentos e nutrientes, que facilitam a produtividade biológica e a diversidade de habitats e de espécies (CROSSLAND *et al.*, 2005).

A contaminação das regiões costeiras tem sido intensificada, nas últimas décadas, devido ao aumento populacional e ao número de construções ao longo desses ambientes (BRASIL, 2008). Essa situação tem causado preocupação crescente a todos que se beneficiam direta ou indiretamente da ZC (EGANHOUSE; SHERBLUM, 2001).

O litoral brasileiro abriga 26,58% da população nacional (IBGE, 2011). Esse padrão de distribuição populacional foi formado, principalmente, devido à forma que se deu a ocupação do território e pela tendência mundial da população em ocupar preferencialmente as zonas costeiras, que são locais estratégicos para a navegação, comércio e lazer, tornando desta forma, o ambiente costeiro mais vulnerável (MORAES, 1999).

O lançamento de esgotos sanitários, com ou sem tratamento prévio, em corpos hídricos é um dos tipos de impacto negativo mais frequente em locais com rápido crescimento da população, urbanização desenfreada e sem infraestrutura que suporte esse desenvolvimento (ISOBE *et al.*, 2002). Os sedimentos desse meio aquático receptor de efluentes tem qualidade comprometida, através da acumulação de contaminantes. No entanto, os contaminantes retidos nos sedimentos nem sempre se tornam indisponíveis para o sistema, afetando apenas esta matriz ambiental, mas também podem ser liberados e disponibilizados para coluna d'água (REIBLE *et al.*, 1996).

O meio aquático que contém sedimentos contaminados pode apresentar eutrofização, devido ao incremento de nutrientes; alterações na biodiversidade, danos à saúde humana, prejuízos ao turismo, à balneabilidade e às atividades pesqueiras (JARDÉ; MANSUY; FAURE, 2005; PRATT *et al.*, 2008).

Segundo dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística através da Pesquisa Nacional por Amostra Domiciliar, o Brasil tem melhorado o acesso aos serviços de saneamento básico. O estudo mostra que está disponível para 82,31% dos brasileiros uma rede geral de abastecimento de água e esgotamento sanitário para 52,5% dos domicílios (73,17% incluindo esgotamento sanitário por fossa séptica). Vale ressaltar a situação peculiar em que a região Nordeste se encontra, apresentando o maior número de domicílios urbanos

sem acesso à rede de esgotamento sanitário ou fossa séptica (3,44 milhões de domicílios), apesar de obter maior aumento das ligações à rede geral de esgotos passando de 39,5% em 2007 para 42,4% em 2008 (IBGE, 2008).

De acordo com a situação em que o Brasil se encontra em termos de saneamento básico, torna-se indispensável a identificação de contaminação nos ambientes aquáticos por esgotos sanitários pois, com a falta de tal serviço, há maior probabilidade desses dejetos serem lançados em corpos hídricos adjacentes.

A identificação da contaminação por efluentes sanitários pode ser feita por biomarcadores (bactérias coliformes, estreptococos, dentre outros), entretanto, estes apresentam limitações, pois são sensíveis às mudanças ambientais (ISOBE *et al.*, 2002). Os marcadores moleculares surgem como melhor alternativa para superar tais limitações, pois são menos susceptíveis às mudanças ambientais (MARTINS, 2001; SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006) e possuem suas estruturas relacionadas a origens específicas, permitindo que sua fonte seja reconhecida (EGANHOUSE, 1997).

Inúmeros estudos foram realizados utilizando marcadores moleculares (esteróis fecais) como indicadores de corpos hídricos contaminados por lançamento de esgotos (EGANHOUSE; SHERBLOM, 2001; ISOBE *et al.*, 2002; READMAN *et al.*, 2005; PENG *et al.*, 2005; REEVES; PATTON, 2005; MONTONE *et al.*, 2010). No Brasil, a maioria dos trabalhos está concentrada na região sul e sudeste (VILELA *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2010; MARTINS *et al.*, 2008a; MUNIZ *et al.*, 2006; FROEHNER *et al.*, 2010).

1.1 Marcadores Moleculares

Marcadores moleculares são moléculas hidrofóbicas ($\log K_{ow} > 3$) que se associam preferencialmente ao material particulado (material particulado em suspensão, sedimento de fundo e biota) (GOMES *et al.*, 2004). Como a maioria das substâncias fica retida nos sedimentos de corpos hídricos (FÖRSTNER; SALOMONS; STIGLIANI, 1995), o estudo dos sedimentos é de grande importância para avaliar a contaminação dos recursos hídricos, pois estes registram a contaminação do local (FÖRSTNER, 2004).

Álcoois, esteróis e cetonas são classificados como bons marcadores moleculares por apresentarem especificidade com a fonte, resistência à ação microbiana e possível quantificação em baixas concentrações (CANUEL, 2001; SALIOT *et al.*, 1991). Os esteróis apresentam resultados satisfatórios na determinação da origem de matéria orgânica

(CARREIRA *et al.*, 2009; WATERSON; CANUEL, 2008), bem como na detecção de aporte de esgotos em ambientes aquáticos (MARTINS *et al.*, 2008a; SHAH *et al.*, 2007).

O coprostanol (5 β -Colentan-3 β -ol) é o esteroide mais abundante nas fezes humanas (40 a 60 % dos esteróides totais) (BROWN; WADE, 1984; LEEMING *et al.*, 1996), sendo formado principalmente pela biohidrogenação do colesterol (Colest-5-en-3 β -ol) pela microflora intestinal (MCCALLEY; COOKE; NICKLESS, 1981). Podendo também ser formado por duas outras formas: redução do colesterol *in situ* e fezes de mamíferos marinhos e terrestres (GRIMALT *et al.*, 1990; TAKADA; EGANHOUSE, 1998). Esse esteroide apresenta característica hidrofóbica, associa-se preferencialmente ao material particulado (TAKADA *et al.*, 1994), possui maior resistência aos processos de degradação bacteriana (BARTLETT, 1987) e é solúvel em solventes orgânicos.

O coprostanol é o esteroide fecal mais utilizado como marcador de poluição por esgotos em corpos hídricos (TAKADA; EGANHOUSE, 1998). Porém, não existe uma legislação quanto a uma determinada concentração de coprostanol que determine uma contaminação fecal, por isso é necessária a determinação de intermediários da redução do colesterol em coprostanol (coprostanona, colestanona e colestanol) para o uso de índices derivados da relação entre a concentração de coprostanol e de outros compostos estruturalmente relacionados (CARREIRA *et al.*, 2001; GRIMALT *et al.*, 1990; TAKADA; EGANHOUSE, 1998) (Tabela 1). Tais valores obtidos nestas relações tendem a distinguir as fontes dos esteróides e a estimar o grau de contaminação da área estudada (CORDEIRO, 2006).

Tabela 1 - Índices derivados da relação entre a concentração de coprostanol e de outros compostos estruturalmente relacionados.

ÍNDICES	INDICATIVO	ÁREA CONTAMINADA	ÁREA NÃO CONTAMINADA	REFERÊNCIA
COP/(COP + COLESTAN)	Contaminação fecal humana	> 0,7	< 0,3	GRIMALT <i>et al.</i> , 1990
COP/COL	Contaminação fecal humana	> 1,0	< 1,0	TAKADA <i>et al.</i> , 1994; MUDGE; BEBIANNO, 1997
COP/COLESTAN	Contaminação fecal humana	> 0,5	< 0,3	SHAH <i>et al.</i> , 2007
COP/(COLESTAN + COL)	Contaminação fecal humana	> 0,2	< 0,15	CHAN <i>et al.</i> , 1998

Legenda: COP (coprostanol); COLESTAN (colestanol); COL (colesterol). Fonte: a autora.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o estado de contaminação promovido pelo lançamento de esgoto no rio Pacoti através do uso de marcadores moleculares da classe dos esteróis fecais.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar e quantificar esteróis em sedimentos superficiais;
- Avaliar a distribuição espacial de esteróis;
- Avaliar a qualidade dos sedimentos a partir da utilização de índices de diagnóstico ambiental;
- Caracterizar o sedimento quanto ao teor de matéria orgânica, carbono orgânico e granulometria.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O rio Pacoti, localizado no nordeste do Brasil, está inserido no conjunto de Bacias Metropolitanas do Estado do Ceará e possui a maior bacia hidrográfica da Região Metropolitana de Fortaleza (RMF), sendo importante para abastecimento de água através do açude Pacoti-Riachão (COGERH, 2010). A bacia encontra-se nas coordenadas 3°45' e 4°19' de latitude sul e 38°53' e 38°19' de longitude oeste, abrangendo os municípios de Mulungu, Palmácia, Pacoti, Redenção, Acarape, Maranguape, Guaiúba, Pacatuba, Pacajus, Horizonte, Itaitinga, Baturité, Eusébio e Aquiraz.

Visto a importância da detecção de contaminação de corpos hídricos por esgotos sanitários na região Nordeste do Brasil, frente à sua situação referente ao saneamento ambiental, e por apresentar poucos estudos que apresentem tais resultados ou similares nesta região, o presente trabalho foi realizado no rio Pacoti, estado do Ceará.

A área de estudo compreende o final do curso do rio, compreendendo os municípios de Aquiraz e Eusébio. Por ser um corpo d'água localizado em áreas urbanas esse trecho do rio Pacoti é marcado por intervenção humana (GORAYEB, 2003). Sem um monitoramento e gestão adequados do rápido desenvolvimento turístico e imobiliário, caracterizado pelo progressivo avanço do número de casas, restaurante e hotéis, o quadro físico do local vem sendo modificado (CEARÁ, 2001).

A situação se agrava quando se considera, juntamente com a alta urbanização e especulação imobiliária, a ausência de saneamento básico eficiente nos assentamentos urbanos adjacentes, visto que os municípios de Aquiraz e Eusébio possuem uma taxa de cobertura urbana de esgoto de apenas 22,79% (IPECE, 2012a) e 12,52% (IPECE, 2012b), respectivamente.

O clima predominante na área de estudo é marcado por elevadas temperaturas e reduzidas amplitudes; acentuada taxa de insolação e evaporação; e acima de tudo, com um regime pluviométrico marcadamente irregular e concentrado no primeiro semestre do ano (COGERH, 2010).

O uso de esteróis fecais é mais recomendado para essa área de estudo devido às temperaturas registradas no local que dificultam o uso de bactérias (ISOBE *et al.*, 2002) e pela

sua proximidade a grandes centros populacionais, onde é provável que haja descarga de efluentes (SASAKI, 2012).

Geologicamente, o território é predominantemente composto pelos depósitos sedimentares cenozoicos representados pela planície litorânea e os tabuleiros costeiros da formação Barreiras. No que concerne aos tipos de solos, a classe predominante é o Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico, seguido pelos Neossolos Quartzarênicos Distróficos. A vegetação está completamente inserida no Complexo Vegetacional da Zona Litorânea (COGERH, 2010).

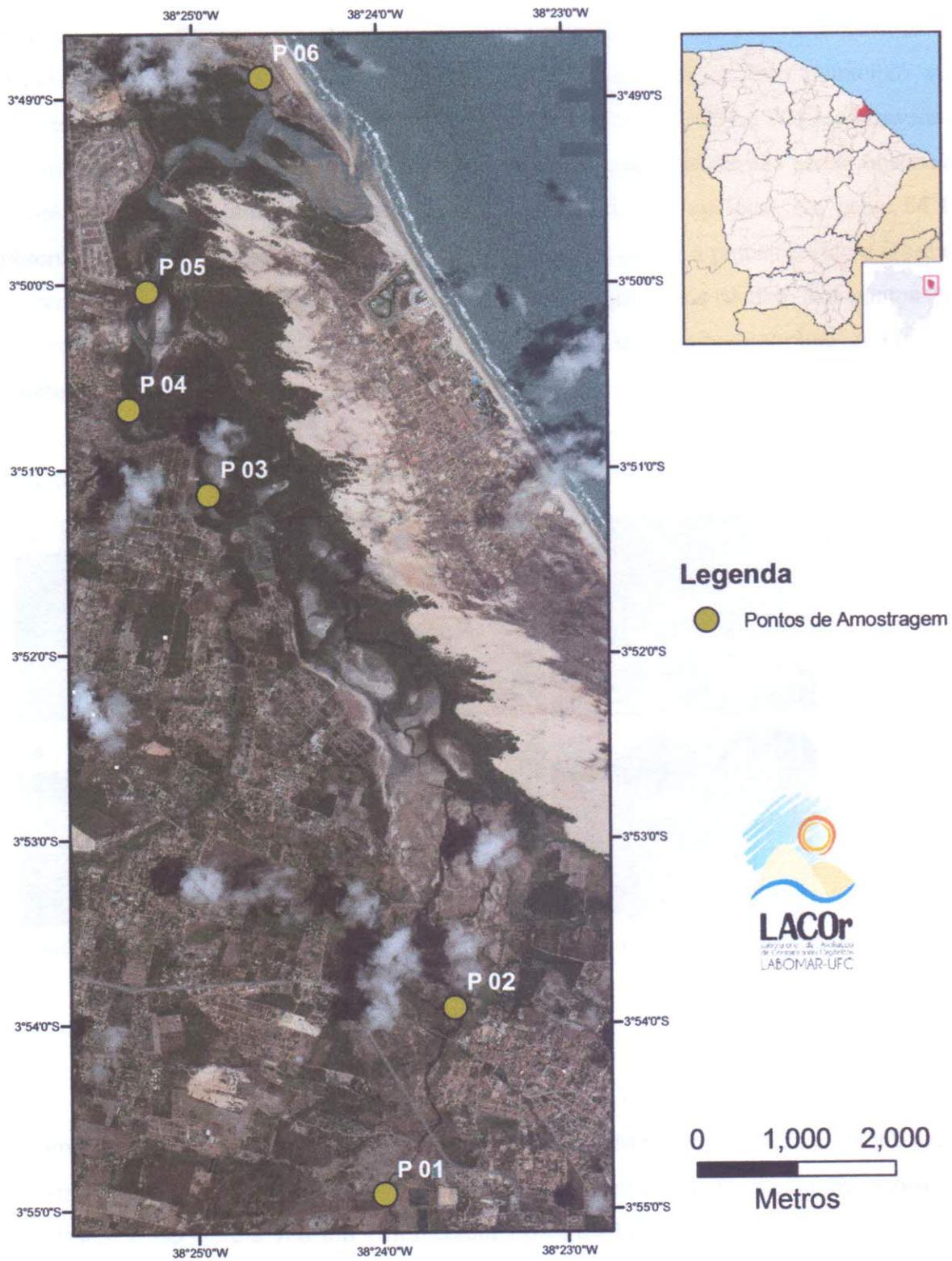
Quanto às atividades humanas na área de estudo, referente ao uso dos recursos naturais, são características de locais situados na ZC: pesca, recreação, turismo e lazer, maricultura, navegação, esportes náuticos, agricultura, indústria e urbanização (NASCIMENTO; CARVALHO, 2003).

No referente à proteção ambiental, a área de estudo abrange duas unidades de conservação: Área de Proteção Ambiental (APA) do rio Pacoti que está situada entre os municípios de Fortaleza, Eusébio e Aquiraz, compreendendo o Rio Pacoti, suas margens e terrenos contíguos (CEARÁ, 2000b); e o Corredor Ecológico do Rio Pacoti que abrange a faixa marginal de ambas as margens do Rio Pacoti, incluindo os municípios de Aquiraz, Itaitinga, Pacatuba, Horizonte, Pacajus, Acarape e Redenção (CEARÁ, 2000a), ambas criadas pelo Governo do Estado.

3.2 Amostragem

A amostragem de sedimentos superficiais com profundidade de 2 cm foi realizada no dia 20 de agosto de 2013 no rio Pacoti durante maré enchente, desde o município de Aquiraz até a foz, totalizando seis pontos amostrados (Figura 1). Durante a coleta, foram utilizados recipientes de alumínio, uma vez que este tipo de recipiente são inertes ao analito de interesse (natureza diferente dos analitos de interesse). As amostras foram devidamente etiquetadas e lacradas; e acondicionadas em isopor com gelo para conservação até a chegada ao laboratório.

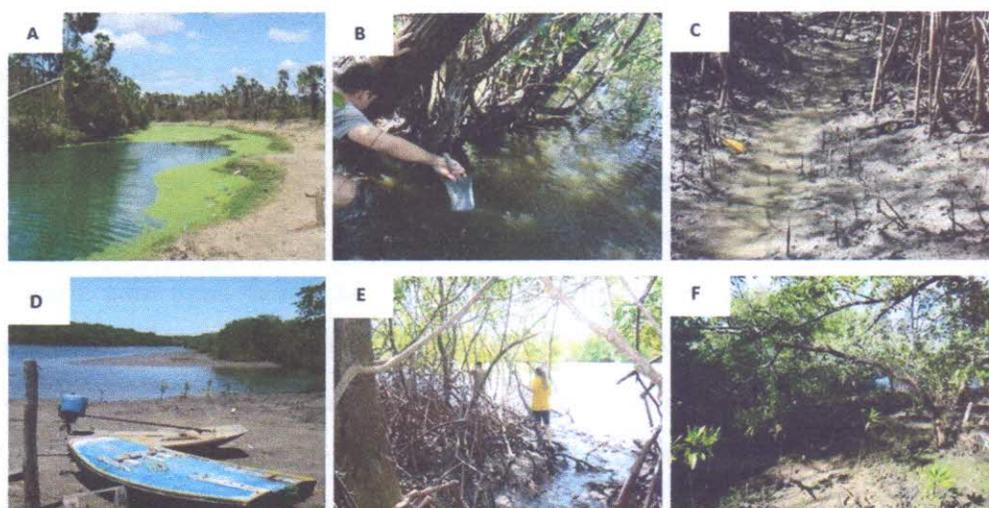
Figura 1 - Pontos de amostragem de sedimentos superficiais no Rio Pacoti.



Fonte: a autora.

O ponto P01 localizava-se a montante da cidade de Aquiraz. Nesse local pode ser observado que a água apresentava coloração esverdeada e lixo; e ainda pode ser constatado a ausência de residências e a presença de atividades de carcinicultura. O ponto P02 localizava-se em Aquiraz e foi observado grande aglomerado urbano, isso porque esse município vem apresentando uma urbanização acelerada. Os pontos P03, P04 e P05 localizavam-se no município de Eusébio. No ponto P03 o ambiente era mais natural não sendo observado residências, contudo também foi encontrado a presença de lixo no local. No ponto P04 foi observado como atividades antrópicas comércio (havia um bar), e a pesca (devido a presença de barcos no local), no entanto não foi verificado grande quantidade de lixo. Nos pontos P05 e P06 foi observada a presença de residências, animais domésticos e bastante lixo. A Figura 2 apresenta os pontos de coleta.

Figura 2 – Imagens dos pontos de coleta.



Legenda: A) Ponto 01; B) Ponto 02; C) Ponto 03; D) Ponto 04; E) Ponto 05; F) Ponto 06. Fonte: a autora.

3.3 Preparação das amostras

No laboratório, as amostras foram homogeneizadas e subdivididas para diferentes tratamentos. Uma parte das amostras foi seca em estufa (Medicate MD 12) a 65 °C, para a determinação granulométrica e carbonato de cálcio. E a outra parte foi seca utilizando-se um liofilizador a -33 °C e a 760 torr (Liofilizador Edwards do Brasil), para a determinação de carbono orgânico e extração dos esteróis.

As técnicas analíticas realizadas para o maior conhecimento do solo e sua correlação com os resultados referentes aos esteróis foram a granulometria, carbonato de cálcio e

carbono orgânico. As análises envolvidas para a determinação dos esteróis presentes no sedimento da área de estudo foram: extração, *clean-up*, derivatização e cromatografia gasosa.

3.4 Análise granulométrica

A análise granulométrica foi sugerida por Suguio (1973). Parte da amostra seca em estufa foi destorroada, homogeneizada e pesada 100 g dessa fração para a análise granulométrica por peneiramento úmido e seco.

Com o objetivo de separar a fração silte-argila, a amostra foi lavada sob uma peneira de malha 0,062 mm em água corrente, recolhendo em balde parte da amostra para pipetagem (material fino) e a parte do sedimento que ficou retido na peneira retornou a estufa.

As amostras secas, após passarem pelo peneiramento úmido, detalhado acima, foram colocadas em um conjunto de peneiras com diâmetros de malhas decrescentes, onde foram colocadas sob um agitador (Bertel) por 10 minutos. Foi recolhida e pesada a fração de sedimento retida em cada peneira.

Após a decantação do material recolhido no balde, foi retirado o excesso de água e o sedimento depositado no fundo foi colocado em uma proveta de 1000 mL. Foi acrescentada à proveta 0,67 g de oxalato de sódio para evitar a floculação, em seguida foi feita a aferição da vidraria com água destilada e por fim foi feita a mistura para a dissolução do reagente. A pipetagem foi realizada nos tempos 0:00'58", 0:03'52", 0:07'44", 0:31'00" e 2:03'00", sendo os dois primeiros coletados a 20 cm abaixo da cota de 1000 mL da proveta e os outros três a 10 cm. Todas as placas de *petri* com o material coletado foram colocadas na estufa e pesadas quando completamente secas.

Ao final das análises, todos os dados referentes à análise granulométrica foram armazenados e processados no *software* ANASED 5.0i criado pelo Laboratório de Geologia Marinha e Aplicada da UFC.

3.5 Determinação de Carbono orgânico (CO) e Matéria Orgânica (MO)

O método que determina o teor de carbono orgânico em um amostra, conhecido como Walkley-Balck modificado (Camargo *et al.*, 2009) resume-se na oxidação da matéria orgânica do sedimento com solução de dicromato de potássio ($K_2CR_2O_7$) e ácido sulfúrico (H_2SO_4),

contando como catalisador o calor desprendido da oxiredução do H_2SO_4 e titulação do excesso de dicromato com Sulfato Ferroso Amoniacal (SFA – $FeSO_4(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$).

Foi colocado um grama de sedimento liofilizado em um *erlenmeyer* de 500 mL e foram adicionados 10 mL da solução de dicromato de potássio 1 N e 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Essa mistura foi aquecida a 50 °C por 5 minutos com o auxílio de uma chapa aquecedora e um sistema de condensação. Em seguida, as amostras foram deixadas em repouso por 30 minutos. Após esse intervalo de tempo foram acrescentados 200 mL de água destilada, 10 mL de ácido ortofosfórico concentrado e 1 mL de difenilamina 1 %. Por fim, as amostras foram tituladas com a solução de SFA 0,25 M, até a mudança de cor de azul para verde. Todo esse procedimento foi feito em triplicata para cada amostra e para um branco.

O teor de determinação de CO foi calculado pela equação 1:

$$\%C = \frac{\left[10 - \left(\frac{V_2 \times 10}{V_1}\right)\right] \times 0,4}{p} \quad (1)$$

Onde:

V_1 : volume de SFA gasto na titulação do branco (mL);

V_2 : volume de SFA gasto na titulação da amostra (mL);

p: peso da amostra (g).

O teor de MO foi calculado pela equação 2:

$$\%MO = \%C \times 1,725 \quad (2)$$

3.6 Determinação de esteróis

Na Tabela 2 estão algumas informações sobre os esteróis analisados nesse trabalho, tais como: nome usual e oficial, origem, informação ambiental e log Kow. Três esteróis (colesterol, coprostanol e colestanol) receberam maior enfoque para a realização desse trabalho por serem utilizados em índices que viabilizam o estudo da contaminação fecal humana no ambiente, sendo denominados esteróis fecais. Porém outros esteróis foram identificados e quantificados, pois fornecem informações sobre os níveis naturais dos compostos orgânicos no local e sobre como os aportes antrópicos podem ser responsáveis por alterá-los.

Tabela 2 - Caracterização dos esteróis presentes neste trabalho.

NOME USUAL	NOME OFICIAL (IUPAC)	PRINCIPAL FONTE (ORIGEM)	INFORMAÇÃO AMBIENTAL	Log Kow (XLOGP3) ^a
Coprostanol	5 β -colestan-3 β -ol	Fezes de animais superiores ^b	Contaminação fecal humana ^c	9,4
Colestanol	5 α -colestan-3 β -ol	Biogênica; Processos diagenéticos ^d	Atividade microbiana ^d	9,4
Campesterol	24-metil-colesten-5-em-3 β -ol	Vegetais superiores ^e	Principal fonte da matéria orgânica ^e	8,8
Colesterol	Colest-5-en-3 β -ol	Natural (Fito e zooplâncton) ^f	Fito e zooplâncton ^f	8,7
Ergosterol	Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol	Decomposição realizada por fungos ^g	Biomassa de fungos ^g	7,4
Estigmasterol	24-etil-colest-5,22-dien-3 β -ol	Vegetais superiores ^e	Principal fonte da matéria orgânica ^e	8,6
β - sitosterol	24 β -etil-colestan-5-en-3 β -ol	Vegetais superiores ^h	Principal fonte da matéria orgânica ^e	9,3

Fontes: a) THE PUBCHEM PROJECT; b) BROWN; WADE, 1984; LEEMING *et al.*, 1996; c) TAKADA; EGANHOUSE, 1998; d) FERNANDES *et al.*, 1999; e) VOLKMAN, 1986; ARAUJO; COSTA; CARREIRA, 2011; f) VOLKMAN *et al.*, 1998; g) GONG; GUAN; WITTER, 2001; h) VOLKMAN, 2006; PRATT *et al.*, 2008.

3.6.1 Extração

De acordo com Cavalcante (2008), foram adicionados à 30 g de sedimento liofilizado de cada amostra 40 μ L de padrão *surrogate* (estrone D2) e misturas eluentes de solventes, sendo estas substâncias apolares para absorção dos analitos de interesse, os esteróis. Os solventes utilizados bem como suas quantidades foram estabelecidos segundo seus índices de polaridade (P°) e constantes eluotrópicas (ϵ°) (CAVALCANTE *et al.*, 2012).

As misturas utilizadas para extração foram: 30 mL de acetona, 30 mL de acetona e acetato de etila (1:1 v/v), 30 mL acetato de etila, 30 mL de acetato de etila e diclorometano (DCM) (1:1 v/v), 30 mL de DCM, 30 mL de DCM e hexano (1:1 v/v) e 30 mL de hexano. Ao acrescentar cada solvente, a mistura passava 20 minutos em banho ultrassom (ELMASONIC modelo E 120 H) para auxiliar na quebra da ligação do contaminante com o sedimento. Após a sonicação, a amostra foi centrifugada a 4000 rpm/15min (centrífuga HermLe modelo Z 360 K) a fim de separar o sedimento da mistura, uma vez que o analito de interesse já foi retirado do sedimento. O sobrenadante foi recolhido e pré-concentrado a 1 mL, em um rotaevaporador FISATOM 801.

Juntamente com as seis amostras dos pontos de coleta, todo o procedimento também foi realizado com uma amostra que representava o branco de vidraria a fim de identificar possíveis interferentes presentes na vidraria utilizada.

3.6.2 Clean-up

Segundo Cavalcante (2008), esse procedimento tem como objetivo “limpar” o extrato anterior. Após a montagem da coluna com a fase estacionária (Figura 3) e adição do extrato oriundo da extração, foram adicionados misturas de solventes para início do processo de fracionamento, conforme a tabela 3. Semelhante aos solventes utilizados na extração, tais solventes foram escolhidos de acordo com seus índices de polaridade e constantes eluotrópicas. Os analitos de interesse para esse trabalho eram recolhidos na terceira fase em balões de 250 mL e novamente pré-concentrados para 1 mL.

Figura 3 - Coluna de *clean up*.



- 2 cm da coluna com sulfato de sódio (Na_2SO_4)
- 0,5 cm da coluna com cobre
- 4g alumina
- 10 g sílica

Fonte: a autora.

Tabela 3 - Frações retiradas do extrato, solventes utilizados e compostos obtidos.

FRAÇÃO	SOLVENTE	COMPOSTOS
F1	40 mL de hexano	Alifáticos e LABs
F2	30 mL de hexano e DCM (3:1 v/v) / 30 mL de hexano e DCM (1:1 v/v)	HPA e outros aromáticos
F3	50 mL de DCM e Metanol (3:1 v/v)	Esteróis fecais e hormônios

Fonte: a autora.

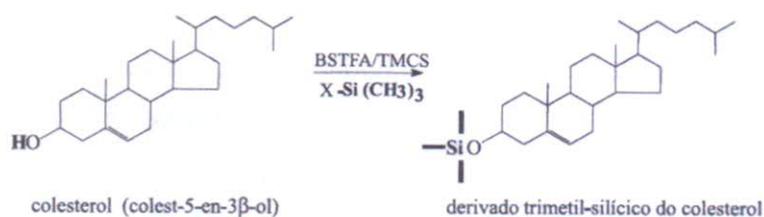
A sílica, alumina, cobre e sulfato de sódio, utilizados no fracionamento das frações, foram descontaminadas e/ou ativadas. A sílica, a alumina e o sulfato de sódio foram ativados em estufa a 200 °C por 12 h. O cobre foi ativado por lavagem com 40 mL de ácido clorídrico 0,1 M, sendo o excesso sifonado; em seguida o mesmo foi feito com 40 mL de acetona, e finalmente, armazenado em hexano.

3.6.3 Derivatização dos extratos

Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo, os extratos foram derivatizados para a volatilização dos esteróis a fim de melhorar a análise cromatográfica. Nessa etapa os esteróis são convertidos em éteres trimetil-silícios através da adição do reagente N, O-bis (trimetil-silil-trifluor-acetamida)/trimetil-cloro-silano (BSTFA/TMCS – 99:1) com 1% TMCS (trimethylchlorosilane) (Figura 4).

A derivatização foi realizada levando o extrato da análise anterior que contém os esteróis à secura. Em seguida, foram adicionados 100 µL da substância derivatizante (BSTFA/TMCS – 99:1) a 65 °C por 1h30min. Por fim, a solução foi novamente levada à secura e os compostos foram ressuspensos com 250 µL de n-hexano.

Figura 4 - Reação de derivatização.



Fonte: MARTINS *et al.*, 2008b.

3.6.4 Identificação e quantificação dos esteróis

Os esteróis investigados foram identificados e quantificados por Cromatografia a Gás equipado com detector por Espectrometria de Massas (CG-EM) utilizando um cromatógrafo da marca Shimadzu, modelo QP2010. A coluna capilar usada na separação dos analitos de

interesse foi obtida da J&W Scientific modelo DB-5 (30 m × 0,25 mm i.d × 0,25 µm espessura de filme). As condições de operação do equipamento estão listadas na tabela 4.

Tabela 4 – Condições cromatográficas utilizadas para determinação dos esteróis.

Fase Móvel (Gás de arraste)	Hélio
Vazão na coluna	4,5 mL/min
Pressão na coluna	431,7 Kpa
Vazão total	50,0 mL/min
Temperatura do injetor	250 °C
Detector	MS
Temperatura do detector	250 °C
Temperatura da interface	250 °C
Temperatura inicial	60 °C
Tempo de corrida	30 min
Temperatura final	300 °C
Modo de injeção	Splitless
Modo de detecção	SIM-SCAN

Fonte: a autora.

Para a quantificação dos esteróis foi preparada uma curva de calibração a partir de uma solução trabalho composta de uma mistura dos analitos de interesse. Essa mistura apresentava concentração de 5000 ppb e foram feitas diluições necessárias para obtenção dos pontos da curva de calibração (100 ppb, 1000 ppb e 2000 ppb). Foi adicionado 12,5 µL de padrão interno (5α-colestane), com concentração de 1000 ppb, em 250 µL de cada ponto da curva. As amostras oriundas da etapa de derivatização, como nos pontos da curva, também receberam a adição 12,5 µL de padrão interno (5α-colestane) com mesma concentração e foram injetadas 2 µL no cromatógrafo.

Para a identificação dos esteróis, foram verificadas as razões massa/carga (m/z) dos íons principal e secundários por revisão de literatura e pelas bibliotecas do programa do equipamento. Após a varredura no modo scan no programa do equipamento foram detectados os tempos de retenção de cada composto derivatizado (Tabela 5).

Tabela 5 – Identificação dos esteróis e dos padrões utilizados neste estudo.

COMPOSTOS*	TEMPO DE RETENÇÃO (min)	m/z ₁	m/z ₂	m/z ₃
Coprostanol	26.207	215	370	75
Colesterol	26.935	129	329	368
Colestanol	27.044	445	215	
Ergosterol	27.483	342	237	
Campesterol	27.935	382	55	343
Estigmasterol	28.242	83		
Beta-Sitosterol	28.905	357	396	
P.I. (5 α -colestane)	25	217	149	218
P.S. (estone-d 2)	13,8	75	353	147

* Esteróis derivatizados. Fonte: a autora.

3.6.5 Controle de qualidade

O controle de qualidade deste trabalho foi feito a partir do uso de padrão interno, padrão *surrogate*, brancos (de solventes e do equipamento) e um protocolo de limpeza nas vidrarias utilizadas na determinação dos analitos de interesse, conforme protocolo desenvolvido por Cavalcante *et al.*, 2012.

O padrão interno é um composto adicionado na solução que contém os analitos de interesse antes da injeção, a fim de corrigir erros decorrentes da injeção (LANÇAS, 2004). Portanto, o PI não pode estar disponível no meio ambiente.

O padrão *surrogate* é um controle analítico que deve ser adicionado antes da extração com concentração conhecida e ser quantificado no final do processo para se verificar a recuperação do método utilizado (LANÇAS, 2004).

Antes de começar a análise de extração dos contaminantes dos sedimentos das amostras, foi feita uma rigorosa limpeza das vidrarias a fim de evitar que qualquer interferente contaminasse a amostra e assegurar a confiabilidade dos dados que foram obtidos. As vidrarias foram lavadas com detertec 2% v/v e água destilada, em seguida passaram 24 horas em banho com detertec 5% v/v, foram lavadas com água destilada, passaram 24 horas em banho de ácido nítrico 5% v/v e finalmente foram levadas para estufa. Os balões volumétricos de fundo redondo foram para a mufla EDG 3000 1P Edgcon a 450°C por 6 a 8 horas, depois do processo de lavagem padrão (HERNANDES, 2009; SEYFFERT, 2008).

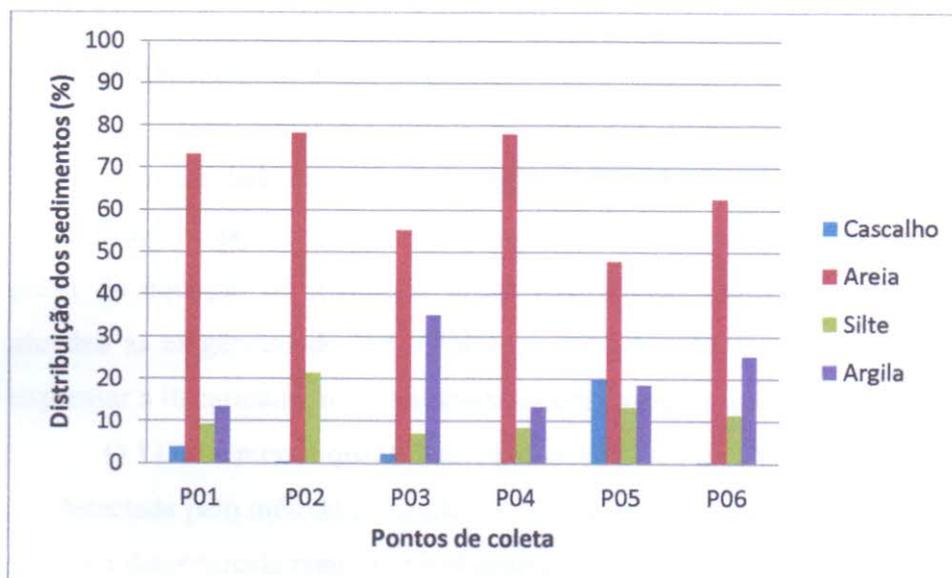
Para garantir a confiabilidade dos dados apresentados através do método cromatográfico escolhido foram analisadas algumas figuras de mérito como: limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e linearidade, de acordo com INMETRO (2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise granulométrica

A granulometria do sedimento de cada ponto é mostrada na figura 5. De acordo com Sheppard (1954), os pontos P01, P03, P05 e P06 foram classificados como areia lamosa, e os pontos P02 e P04 como areia.

Figura 5 – Resultados da análise granulométrica.



Fonte: a autora.

4.2 Matéria Orgânica

Os valores de teor de MO encontrados nos pontos de coleta, calculados a partir da determinação de CO, estão apresentados na tabela 6. Portanto, foram registrados baixos teores de MO semelhante aos estudos anteriormente realizados no Rio Jaguaribe (OLIVEIRA, 2012) e no Rio Cocó e Ceará (CAVALCANTE, 2007), todos no estado do Ceará.

Tabela 6 – Teores de MO em cada ponto de coleta.

PONTOS DE COLETA	[MO] ¹ (%)	[MO] ² (%)	[MO] ³ (%)	MÉDIA (%)	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO
P01	4,17	4,00	4,15	4,10	0,10	2,3
P02	1,46	2,02	1,95	1,81	0,31	17,0
P03	5,38	5,16	5,35	5,30	0,12	2,3
P04	1,75	1,64	1,93	1,77	0,14	8,0
P05	4,46	4,85	4,86	4,72	0,23	4,9
P06	3,13	3,31	3,24	3,23	0,09	2,7

Fonte: a autora.

4.3 Figuras de mérito

A linearidade do método é verificada através da sua capacidade de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do composto analisado, podendo ser calculada a partir da equação de regressão linear (INMETRO, 2007). O método do presente estudo atendeu às exigências do INMETRO que utiliza o coeficiente de correlação linear (r) para expressar a linearidade, recomendando valores maiores que 0,90 (Tabela 7).

O LD é a menor quantidade ou concentração do analito presente na amostra que pode ser detectada pelo método utilizado. O LQ é a menor concentração do analito de interesse que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade (INMETRO, 2007). Os limites de detecção e quantificação calculados para o presente trabalho estão na tabela 7.

Tabela 7 – Linearidade, LD e LQ do método cromatográfico do presente trabalho.

Compostos	Equação de regressão	Faixa de trabalho (µg/L)	r	LD (µg/L)	LQ (µg/L)
Coprostanol	$y = 0,0005x + 0,0333$	100 – 2000	0,9666	3,40	34,00
Colesterol	$y = 0,0005x + 0,0409$	100 – 2000	0,9909	8,20	82,00
Colestanol	$y = 0,0009x + 0,0268$	100 – 2000	0,9976	3,56	35,56
Ergosterol	$y = 0,0001x + 0,0063$	100 – 2000	0,9653	7,00	70,00
Campesterol	$y = 0,0007x + 0,0822$	100 – 2000	0,9501	4,00	40,00
Estigmasterol	$y = 0,001x + 0,0328$	100 – 2000	0,9959	7,20	72,00
Beta-Sitosterol	$y = 0,0005x + 0,0279$	100 – 2000	0,9933	4,20	42,00

Fonte: a autora.

4.4 Recuperação do padrão *surrogate*

O padrão *surrogate* é um composto ou elemento puro representativo da substância de interesse na forma nativa adicionado à amostra, com concentração conhecida, onde é extraído e quantificado. A recuperação do método através do uso de padrão *surrogate* é definida como a proporção da quantidade da substância que é quantificada após a extração (RIBANI *et al.*, 2004).

Alguns autores indicam faixas de valores de recuperação satisfatórios. Os valores sugeridos por Ribani *et al.* (2004) compreende o intervalo entre 70 a 120%. Enquanto que USEPA (2007) admite valores entre 30 a 115%. No presente estudo, a recuperação do padrão *surrogate* variou de 90 a 105 %, sendo considerada satisfatória para os autores citados.

4.5 Distribuição dos esteróis

Os esteróis identificados e quantificados neste estudo estão resumidos na tabela 8. O somatório dos níveis de esteróis (Σ_{esterol}) encontrada na área de estudo foi de 484,93 a 6155,29 ng/g. Os esteróis foram identificados e quantificados nos pontos P01, P03, P04 e P06, pois os pontos P02 e P05 saturaram o detector do cromatógrafo. No total, sete esteróis foram detectados nos sedimentos superficiais do rio Pacoti. β -sitosterol, estigmasterol e ergosterol foram os esteróis mais abundantes na área de estudo, representando 49,6%, 16,5% e 12,4%, respectivamente.

Tabela 8 – Concentrações dos esteróis (ng/g) quantificados neste estudo em cada ponto de coleta.

	P01	P03	P04	P06
Coprostanol	165,48	222,69	21,49	56,51
Colesterol	224,03	72,55	116,71	460,77
Colestanol	0,12	5,56	0,12	76,24
Ergosterol	295,01	812,89	206,85	94,28
Campesterol	16,47	52,26	20,35	83,02
Estigmasterol	1302,21	88,84	17,70	460,35
B-sitosterol	4065,87	367,30	42,51	1157,76
Total de esteróis	6155,29	2069,30	484,93	2642,94

Fonte: a autora.

O β -sitosterol é produzido por vegetais superiores (VOLKMAN, 2006). Este esterol foi o mais abundante na área de estudo dentre os esteróis analisados, apresentando concentrações na faixa de 42,51 a 4065,87 ng/g. Tal composto foi o mais representativo nos pontos P01 e P06 (Tabela 8), evidenciando fonte terrestre de MO oriunda de plantas superiores nestes pontos de coleta. Também foi observada a dominância de tal esterol na Baía de Sepetiba com valores oscilando de níveis não detectáveis a 18400 ng/g (THOMAZELLI, 2010).

O β -sitosterol juntamente com o estigmasterol e o campesterol são considerados os principais constituintes de plantas (HARTMANN, 1998). Porém o estigmasterol e o campesterol também podem ter suas fontes associadas a algas marinhas e fitoplâncton (VOLKMAN, 1986; VOLKMAN *et al.*, 1998). O estigmasterol foi o segundo esterol mais abundante no rio Pacoti, com concentrações que variaram de 17,70 a 1302,21 ng/g. As concentrações desse composto estão altamente correlacionadas com as concentrações do β -sitosterol ($r=0,99$), sugerindo a mesma fonte para os mesmos. Já o campesterol apresentou concentrações de 16,47 a 83,02 ng/g (tabela 8) e nenhuma correlação com as concentrações do β -sitosterol (coeficiente de correlação linear negativo).

O ergosterol é proveniente de fungos decompositores (GONG; GUAN; WITTER, 2001). Na área de estudo esse esterol foi registrado com consideráveis concentrações, sendo o composto majoritário do ponto P03 (812,89 ng/g), indicando intensa atividade microbiana (Tabela 8).

O colestanol é formado principalmente através da redução *in situ* do colesterol por bactérias anaeróbicas, porém também pode ser originado por dinoflagelados e diatomáceas (FERNANDES *et al.*, 1999). Este esterol foi o menos abundante na área de estudo, com valores baixos em quase todos os pontos amostrais, sendo mais representativo apenas no ponto P06 (76,24 ng/g) (Tabela 8). Portanto, essa distribuição sugere que não ocorre uma importante fonte biogênica desse esterol e a atividade bacteriana no rio Pacoti, não apresenta uma significativa fonte diagenética desse composto.

O colesterol é geralmente o esterol mais encontrado nos ambientes aquáticos (VOLKMAN *et al.*, 1998), porém este padrão não foi observado no rio Pacoti basicamente devido às altas concentrações do β -sitosterol, estigmasterol e ergosterol. Os valores do colesterol ocorreram na faixa de 72,55 a 460,77 ng/g (Tabela 8), sendo o ponto P06 o que apresentou maior concentração.

O coprostanol, marcador utilizado em estudos sobre o aporte de esgotos devido à especificidade com material fecal de origem humana (MALDONADO *et al.*, 2000), foi detectado em todas as amostras e sua concentração nos sedimentos coletados no rio Pacoti variou de 21,49 a 222,69 ng/g (Tabela 8). Os valores de coprostanol encontrados neste trabalho foram, em geral, bem menores que as concentrações registradas em outras áreas no Brasil e no mundo; sendo similares somente aos valores detectados por Muniz *et al* (2006) na Baía de Ubatuba em São Paulo (< 10 – 270 ng/g) (Tabela 9).

O coprostanol pode ser degradado, assim como outros esteróis, em locais que apresentam alta atividade bacteriana, como as regiões tropicais. Portanto o registro nos sedimentos da área de estudo podem não representar a quantidade real desses compostos. A razão colestanol/colesterol avalia o grau dessa transformação diagenética de esteróis em ambientes sedimentares. Valore entre 0,5 e 1,0 sugerem influência diagenética nos marcadores moleculares (VOLKMAN, 2006). Dessa forma, os sedimentos do Rio Pacoti funcionam como um bom registro de esteróis, uma vez que apresentaram média para essa razão de 0,06.

Tabela 9 – Faixas de concentração de coprostanol em sedimentos em vários sistemas aquáticos.

LOCAL	FAIXA DE CONCENTRAÇÃO COP (ng/g)	REFERÊNCIA
Rio Pacoti - Ceará	21,49 – 222,69	Este estudo
BRASIL		
Complexo estuarino-lagunar de Mundaú-Manguaba - Alagoas	150-5650	ARAUJO; COSTA; CARREIRA, 2011
Estuário Capiberibe – Pernambuco	520 - 7320	FERNANDES <i>et al.</i> , 1999
Estuário Paranaguá - Paraná	< 1 - 2220	MARTINS <i>et al.</i> , 2010
Baía de Ubatuba – São Paulo	< 10 - 270	MUNIZ <i>et al.</i> , 2006
Baía de Sepetiba - Rio de Janeiro	n.d. - 4000	THOMAZELLI, 2010
Baía das Laranjeiras - Paraná	< 10 ⁻²	MARTINS <i>et al.</i> , 2012
Baía de Guanabara – Rio de Janeiro	210 - 40800	CORDEIRO; CARREIRA; WAGENER, 2008
OUTROS PAÍSES		
Malásia e Vietnã	40-4500	ISOBE <i>et al.</i> , 2002
Rio Siak - Indonésia	50 – 10530	LIEBEZEIT; WOSTMANN, 2010
Porto de Mar del Plata, Argentina	130 – 400	ALBANO <i>et al.</i> , 2013
Zona costeira da cidade Kuwait - Kuwait	874 – 41230	SAEED <i>et al.</i> , 2012

Legenda: n.d. - não detectado. Fonte: a autora.

R.14106711

Apesar da multiplicidade de fontes de alguns dos esteróis estudados, o uso destes compostos no estudo da contaminação por esgotos é viável, quando diretamente associados aos esteróis fecais através de razões entre as concentrações de diferentes compostos.

4.6 Índices para diagnóstico ambiental do rio Pacoti

O ponto P01 é composto em grande parte por esteróis naturais provenientes de plantas superiores (β -sitosterol e estigmasterol), no entanto também foi registrada a presença do indicador de contaminação pelo lançamento de esgotos, coprostanol. Os resultados dos índices utilizados para diagnóstico ambiental quanto à contaminação fecal apresentaram indícios de contaminação fecal no local (Tabela 10).

O ponto P03 registrou a maior concentração de coprostanol dentre as amostras (0,22 $\mu\text{g/g}$). Utilizando os índices que informam quanto à contaminação fecal do local, o ponto P03 foi classificado como área contaminada em todos eles (Tabela 10). Portanto, o ponto P03 é notavelmente impactado pela entrada de esteróis fecais no local.

O ponto P04 é classificado como ambiente contaminado nesse estudo, pois apesar de contaminação menor que nos pontos à jusante, este local já é classificado como contaminado pelos índices I e III (Tabela 10).

O ponto P06 é classificado como o ponto de coleta menos impactado por contaminação fecal quando analisados os índices de diagnóstico ambiental (Tabela 10). Este padrão encontrado sugere que a região não recebe a influência direta dos aportes de esgotos na mesma proporção que ocorrem nas porções mais urbanizadas à jusante. Apesar de menos impactado, o ponto P06 já apresenta valores próximos a ambientes com leves indícios de contaminação fecal.

Tabela 10 – Resultados dos índices utilizados neste estudo.

ÍNDICES	ÁREA CONTAMINADA	PONTOS DE COLETA			
		P01	P03	P04	P06
I	> 0,7	1,00	0,98	0,99	0,43
II	> 1,0	0,74	3,07	0,18	0,12
III	> 0,5	1396,20	40,06	181,35	0,74
IV	> 0,2	0,74	2,85	0,18	0,11

Legenda: I) COP/(COP + COLESTAN); II) COP/COL; III) COP/COLESTAN; IV) COP/(COLESTAN + COL); COP (coprostanol); COLESTAN (colestanol); COL (colesterol). Fonte: a autora.

Deste modo, pode-se sugerir que o baixo curso do Rio Pacoti, mesmo estando inserido em uma APA, recebe contribuições significativas relacionadas à introdução de esgoto e configura-se como um ambiente contaminado.

4.7 Correlação entre esteróis, granulometria e matéria orgânica

Os sedimentos finos (silte e argila) têm maior capacidade de sorção de compostos orgânicos que grãos mais grossos (HUNG *et al.*, 2007). Portanto, já que os analitos de interesse se associam preferencialmente ao material particulado (material particulado em suspensão, sedimento de fundo e frações da matéria orgânica) (GOMES *et al.*, 2004), era esperada uma boa correlação entre os resultados dos grãos finos do sedimento, teor de matéria orgânica e o total de esteróis encontrados. Contudo, esse padrão não foi observado na área de estudo (Tabela 11).

A quantidade de esteróis presente nos pontos de coleta apresentou baixa correlação com os dados referentes ao teor da matéria orgânica ($r=0,13$) e nenhuma correlação com o teor de material fino no sedimento (coeficiente de correlação linear negativo). Montone *et al.* (2010) encontraram resultado semelhante, visto que foi observada baixa correlação ($r=0,42$) entre esteróis fecais e sedimentos finos (silte e argila).

Tabela 11 – Teor de esteróis totais, matéria orgânica e granulometria de cada ponto da área de estudo.

PONTOS DE COLETA	Σ_{esterol}	%MO	GRANULOMETRIA	
			% FINOS	%GROSSOS
P01	6155,29	4,1	22,81	77,19
P03	2069,30	5,3	42,26	57,74
P04	484,93	1,77	21,92	78,08
P06	2642,94	3,23	37,07	62,93

Fonte: a autora.

5 CONCLUSÕES

Os esteróis foram identificados e quantificados apenas nos pontos P01, P03, P04 e P06, pois os pontos P02 e P05 saturaram o detector do cromatógrafo.

Foram identificados sete esteróis na área de estudo (colesterol, colestanol, coprostanol, estigmasterol, campesterol, β -sitosterol e ergosterol) dentre os quais os mais abundantes foram o β -sitosterol, estigmasterol e ergosterol representando 49,6%, 16,5% e 12,4% dos esteróis totais, respectivamente.

O total de esteróis encontrados na área de estudo encontra-se na faixa de 484,93 a 6155,29 ng/g e tais concentrações não apresentaram correlação significativa com o material fino e matéria orgânica. A ausência de forte correlação entre o material fino e esteróis fecais sugere que o tamanho dos grãos que compõem os sedimentos dos pontos de coleta não consiste, de forma geral, como um fator preponderante para o acúmulo destes compostos.

O coprostanol foi quantificado em todos os pontos de amostragem de sedimentos e sua concentração variou de 21,49 a 222,69 ng/g. Embora não seja possível usar o coprostanol para estabelecer um valor de referência para contaminação fecal, comparando as concentrações de coprostanol do presente trabalho com as obtidas em outras áreas no Brasil e no mundo, pode-se considerar que os sedimentos superficiais do rio Pacoti apresentam contaminação por esgotos ainda incipiente.

O despejo de esgoto foi detectado através do uso de índices de diagnóstico, principalmente nas regiões mais urbanizadas do rio Pacoti. Esses níveis de contaminação encontrados podem ser atribuídos à parcela da população dos assentamentos urbanos adjacentes com serviços de saneamento inadequados ou inexistentes.

Tendo em vista a importância desse ecossistema, o presente estudo fornece os primeiros dados de esteróis nos sedimentos do Rio Pacoti, sendo úteis para indicar os níveis atuais que proporcionam um melhor entendimento da qualidade ambiental e servem como referência para promover uma gestão quanto à ocupação territorial no intuito de garantir a preservação, conservação e recuperação do ambiente.

REFERÊNCIAS

- ALBANO, M. J. ; LANA, P. C.; BREMEC, C.; ELÍAS, R.; MARTINS, C. C.; VENTURINI, N.; MUNIZ, P.; RIVERO, S.; VALLARINO, E. A.; OBENAT, S. Macrobenthos and multi-molecular markers as indicators of environmental contamination in a South American port (Mar del Plata, Southwest Atlantic). **Marine Pollution Bulletin**, v. 73, n. 1, p. 102–114, 2013.
- ARAÚJO, M. P.; COSTA, T. L. F.; CARREIRA, R. S. Esteróis como indicadores do acúmulo de esgotos domésticos em sedimentos de um sistema estuarino-lagunar tropical (Mundau - Manguaba, AL). **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 64-70, 2011.
- BARTLETT P. D. Degradation of coprostanol in an experimental system. **Marine Pollution Bulletin**, v. 18, n. 1, p. 27-29, 1987.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Macrodiagnóstico da zona costeira e marinha do Brasil**. Brasília: MMA, 242 p, 2008.
- BROWN, R. C.; WADE, T. L. Sedimentary coprostanol and hydrocarbon distribution adjacent to a sewage outfall. **Water Research**, v. 18, n. 5, p. 621–632, 1984.
- CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas, Instituto Agronômico, p. 77, 2009. (Boletim técnico, 106, Edição revista e atualizada).
- CANUEL, E. A. Relations between river flow, primary production and fatty acid composition of particulate organic matter in San Francisco and Chesapeake Bays: a multivariate approach. **Organic Geochemistry**, v. 32, p. 563- 583, 2001.
- CARREIRA, R. S.; RIBEIRO, P. V.; SILVA, C. E.; FARIAS, C. O. Hydrocarbons and sterols as indicators of source and fate of organic matter in sediments from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1805-1811, 2009.
- CARREIRA, R. S.; WAGENER, A.L.R.; FILEMAN, T.; READMAN, J.W. Distribuição de coprostanol (5 β -coleston-3 β -ol) em Sedimentos Superficiais da Baía de Guanabara: Indicador da poluição recente por Esgotos domésticos. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 37-42, 2001.
- CAVALCANTE, R.M. **Otimização de metodologias de extração e análise de HPAs para determinação da distribuição ambiental e estimativa de fontes na cidade de Fortaleza**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- CAVALCANTE, R.M.; LIMA, D. M.; CORREIA, L.M.; NASCIMENTO, R.F. Técnicas de extrações e procedimentos de *clean-up* para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos da costa do Ceará. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1371-1377, 2008.

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; FERNANDES, G. M.; DUAVÍ, W. C. Relation factor: A new strategy for quality control in the determination of pesticides in environmental aqueous matrices. **Talanta**, v. 93, p. 212-218, 2012.

CEARÁ. Decreto nº 25.777 de 15 de fevereiro de 2000. Cria o Corredor Ecológico do Rio Pacoti. **Governo do Estado do Ceará**, Fortaleza, CE, 15 fev. 2000a. Disponível em <http://antigo.semace.ce.gov.br/biblioteca/legislacao/conteudo_legislacao.asp?cd=74>. Acesso em: 20 set. 2013.

CEARÁ. Decreto nº 25.778 de 15 de fevereiro de 2000. Cria a APA do Rio Pacoti. **Governo do Estado do Ceará**, Fortaleza, CE, 15 fev. 2000b. Disponível em <http://antigo.semace.ce.gov.br/biblioteca/legislacao/conteudo_legislacao.asp?cd=75>. Acesso em: 20 set. 2013.

CEARÁ. SECRETARIA DE TURISMO DO ESTADO DO CEARÁ (SETUR). **Manual de Informações Turísticas do Ceará**. Fortaleza, Ceará, 2001.

CHAN, K. H.; LAM, M. H. W.; POON, K. F.; YEUNG, H. Y.; CHIU, T. K. T. Application of sedimentary fecal stanols and sterols in tracing sewage pollution in coastal waters. **Water Research**, v. 32, n. 1, p. 225-235, 1998.

COGERH - COMPANHIA DE GESTÃO DOS RECURSOS HÍDRICOS. **Revisão do plano de gerenciamento das águas das bacias metropolitanas – Síntese do Relatório Final**. Ceará, 2010. Disponível em: <<http://portal.cogerh.com.br/planos-de-bacias/sintase-do-relatorio-final>> Acesso em: 06 novembro 2013.

CORDEIRO, L. G. S. M. **Esteróis como marcadores moleculares da contaminação fecal no sistema estuarino Iguaçú-Sarapuá, noroeste da Baía de Guanabara (RJ)**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

CORDEIRO, L. G. S. M.; CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R. Geochemistry of fecal sterols in a contaminated estuary in southeastern Brazil. **Organic Geochemistry**, v. 39, n. 8, p. 1097–1103, 2008.

CROSSLAND, C. J.; BAIRD, D.; DUCROTOY, J. P.; LINDEBOOM, H.; BUDDEMEIER, R. W.; DENNISON, W. C.; MAXWELL, B. A.; SMITH, S. V.; SWANEY, D. P. The coastal zone—a domain of global Interactions. *In Coastal Fluxes in the Anthropocene*. Berlin: Springer, p. 1-37, 2005.

EGANHOUSE, R. P. **Molecular Markers in Environmental Geochemistry**. American Chemical Society Symposium Series 671. American Chemical Society, Washington, DC, 1997.

EGANHOUSE, R. P.; SHERBLOM, P.M. Anthropogenic organic contaminants in the effluent of a combined sewer overflow: impact on Boston Harbor. **Marine Environmental Research**, v. 51, n. 1, p. 51–74, 2001.

FERNANDES, M. B.; SICRE, M. A.; CARDOSO, J. N.; MACEDO, S. J. Sedimentary 4-desmethyl sterols and n-alkanols in an eutrophic urban estuary, Capiberibe River, Brazil. **The Science of the Total Environment**, v. 231, n. 1, p.1-16, 1999.

FÖRSTNER, U. Traceability of sediment analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 217, 2004.

FÖRSTNER, U.; SALOMONS, W.; STIGLIANI, W. Biogedynamics of Pollutants in Soils and Sediments. **Biogedynamics of Pollutants in Soils and Sediments**. Berlin: Springer, cap. 11, 1995.

FROEHNER, S.; SOUZA, D. B.; MACHADO, K. S.; DA ROSA, E. C. Tracking anthropogenic inputs in Barigui River, Brazil using biomarkers. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 210, n. 1-4, p. 33-41, 2010.

GOMES, R. L.; AVCIOGLU, E.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Steroid estrogen determination in sediment and sewage sludge: a critique of sample preparation and chromatographic/mass spectrometry considerations, incorporating a case in method development. **Trends in Analytical Chemistry**, v.23, n.10-11, p.737-743, 2004.

GONG, P.; GUAN, X.; WITTER, E. A rapid method to extract ergosterol from soil by physical disruption. **Applied Soil Ecology**, v. 17, n. 3, p. 285-289, 2001.

GORAYEB, A. **Impactos Sócioambientais e Propostas de Manejo Sustentável para a Planície Flúvio-Marinha do Rio Pacoti-CE**. 2003. Relatório de Graduação - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

GRIMALT, J. O; FERNANDEZ, P.; BAYONA, J. M; ALBAIGES, J. Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. **Environmental Science & Technology**, v. 24, n. 3, p. 357-363, 1990.

HARTMANN, M.A. Plant sterols and the membrane environment. **Trends in Plant Science**, v. 3, n. 5, p. 170-175, 1998.

HERNANDES, J. C. **Determinação de marcadores orgânicos no perfil sedimentar do complexo estuarino de Paranaguá (PR) por CG-EM**. 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2009.

HUNG, C.C.; GONG, G. C.; CHEN, H. Y.; HSIEH, H. L.; SANTSCHI, P. H.; WADE, T. L.; SERICANO J. L. Relationships between pesticides and organic carbon fractions in sediments of the Danshui River estuary and adjacent coastal areas of Taiwan. **Environmental Pollution**, v. 148, p. 546-554, 2007

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008 – Revisão 02; p. 25, 2007.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Atlas geográfico das zonas costeiras e oceânicas do Brasil**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv55263.pdf>>. Acesso em: 04 outubro 2013.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional por Amostra Domiciliar**. Rio de Janeiro, v. 29, p.107, 2008.

IPECE - Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. **Perfil Básico Municipal 2012: Aquiraz**. 2012a. Disponível em: <http://www.ipece.ce.gov.br/publicacoes/perfil_basico/pbm-2012/Aquiraz.pdf>. Acesso em 06 novembro 2013.

IPECE - Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. **Perfil Básico Municipal 2012: Eusébio**. 2012b. Disponível em: <http://www.ipece.ce.gov.br/publicacoes/perfil_basico/pbm-2012/Eusebio.pdf>. Acesso em 06 novembro 2013.

ISOBE, K. O.; TARAO, M.; ZAKARIA, M. P.; CHIEM, N. H.; MINH, L. Y.; TAKADA, H. Quantitative Application of Fecal Sterols Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry To Investigate Fecal Pollution in Tropical Waters: Western Malaysia and Mekong Delta, Vietnam. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 21, p. 4497-4507, 2002.

JARDÉ, E.; MANSUY, L.; FAURE, P. Organic markers in the lipidic fraction of sewage sludges. **Water research**, v. 39, n. 7, p. 1215-1232, 2005.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. Editora Rima, São Carlos, Brasil, 2004.

LEEMING, R.; BALL, A.; ASHBOLT, N.; NICHOLS, P. Using faecal sterols from humans and animals to distinguish faecal pollution in receiving waters. **Water Research**, v. 30, n. 12, p. 2893-2900, 1996.

LIEBEZEIT, G.; WOSTMANN, R. Coprostanol in Siak River Sediments, E Sumatra, Indonesia. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 85, n. 6, p. 585-588, 2010.

MALDONADO, C.; VENKATESAN, M.I.; PHILLIPS, C.R.; BAYONA, J.M. Distribution of Trialkylamines and Coprostanol in San Pedro Shelf Sediments Adjacent to a Sewage Outfall. **Marine Pollution Bulletin**, v.40, p. 680-687, 2000.

MARTINS, C.C. **Avaliação de introdução de esteroides fecais e hidrocarbonetos marcadores geoquímicos em sedimentos da baía da Almirantado, Península Antártica**. 2001. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oceanográfico, São Paulo, 2001.

MARTINS, C. C.; BÍCEGO, M. C.; FIGUEIRA, R. C.; ANGELLI, J. L. F.; COMBI, T.; GALLICE, W. C.; MANSUR, A. V.; NARDES, E.; ROCHA, M. L.; WISNIESKI, E.; CESCHIM, L. M. M.; RIBEIRO, A. P. Multi-molecular markers and metals as tracers of organic matter inputs and contamination status from an Environmental Protection Area in the SW Atlantic (Laranjeiras Bay, Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 417-418, p. 158-168, 2012.

MARTINS, C. C.; BRAUN, J. A.; SEYFFERT, B. H.; MACHADO, E. C.; FILLMANN, G. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, n. 11, p. 2137-2143, 2010.

MARTINS, C. C.; FERREIRA, J. A.; TANIGUCHI, S.; MAHIQUES, M. M.; BÍCEGO, M. C.; MONTONE, R. C. Spatial distribution of sedimentary linear alkylbenzenes and faecal steroids of Santos Bay and adjoining continental shelf, SW Atlantic, Brazil: origin and fate of sewage contamination in the shallow coastal environment. **Marine pollution bulletin**, v. 56, n. 7, p. 1359-1363, 2008a.

MARTINS, C. C.; GOMES, F. B. A.; FERREIRA, J. A.; MONTONE, R. C. Organic markers of sewage contamination in surface sediments from Santos bay, São Paulo. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1008-1014, 2008b.

MCCALLEY, D. V.; COOKE, M.; NICKLESS, G. Effect of sewage treatment on faecal sterols. **Water Research**, v. 15, n. 8, p. 1019-1025, 1981.

MONTONE, R. C.; MARTINS, C. C.; BÍCEGO, M. C.; TANIGUCHI, S.; ALBUQUERQUE MOREIRA DA SILVA, D.; CAMPOS, L. S.; WEBER, R. R. Distribution of sewage input in marine sediments around a maritime Antarctic research station indicated by molecular geochemical indicators. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 20, p. 4665-4671, 2010.

MORAES, A. C. R. **Contribuições para a gestão da zona costeira do Brasil: elementos para uma geografia do litoral brasileiro**. São Paulo: Hucitec; Edusp, p. 111, 1999.

MUDGE, S. M.; BEBIANNO, M. J. Sewage contamination following in a accidental spillage in the Ria Formosa, Portugal. **Marine Pollution Bulletin**, v. 34, n. 3, p. 163-170, 1997.

MUNIZ, P.; PIRES-VANIN, A.; MARTINS, C. C.; MONTONE, R. C.; BÍCEGO, M. C. Trace metals and organic compounds in the benthic environment of a subtropical embayment (Ubatuba Bay, Brazil). **Marine pollution bulletin**, v. 52, n. 9, p. 1098-1105, 2006.

NASCIMENTO, F. R.; CARVALHO, O. Ocupação, uso da terra e economia sustentável na bacia metropolitana do Pacoti – nordeste do Brasil – Ceará. **Revista da casa da geografia de sobral**. Sobral, v. 4/5, p. 101-113, 2002/2003.

OLIVEIRA, A. H. B. D. **Avaliação ambiental e forma de transporte de agrotóxicos organoclorados no Rio Jaguaribe-CE**. (2012). Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

PENG, X.; ZHANG, G.; MAI, B.; HU, J.; LI, K.; WANG, Z. Tracing anthropogenic contamination in the Pearl River estuarine and marine environment of South China Sea using sterols and other organic molecular markers. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 8, p. 856-865, 2005.

PRATT, C.; WARNKEN, J.; LEEMING, R.; ARTHUR, M. J.; GRICE, D. I. Degradation and responses of coprostanol and selected sterol biomarkers in sediments to a simulated major sewage pollution event: A microcosm experiment under sub-tropical estuarine conditions. **Organic Geochemistry**, v. 39, n. 3, p. 353-369, 2008.

READMAN, J. W.; FILLMANN, G.; TOLOSA, I.; BARTOCCI, J.; MEE, L. D. The use of steroid markers to assess sewage contamination of the Black Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 3, p. 310-318, 2005.

REEVES, A. D.; PATTON, D. Faecal sterols as indicators of sewage contamination in estuarine sediments of the Tay Estuary, Scotland: an extended baseline survey. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 9, n. 1/2, p. 81-94, 2005.

REIBLE, D. D.; POPOV, V.; VALSARAJ, K. T.; THIBODEAUX, L. J.; LIN, F.; DIKSHIT, M.; DIKSHIT, M.; TODARO, M.A.; FLEEGER, J. W. Contaminant fluxes from sediment due to tubificid oligochaete bioturbation. **Water Research**, v. 30, n. 3, p. 704-714, 1996.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G; COLLINS C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SAEED, T.; AL-BLOUSHI, A.; ABDULLAH, H. I.; AL-KHABBAZ, A.; JAMAL, Z. Preliminary assessment of sewage contamination in coastal sediments of Kuwait following a major pumping station failure using fecal sterol markers. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v.15, edição especial: SI (suplemento1), p. 25-32, 2012.

SALIOT, A.; LAUREILLARD, J.; SCRIBE, P.; SICRE, M. A. Evolutionary trends in the lipid biomarker approach for investigating the biogeochemistry of organic matter in the marine environment. **Marine Chemistry**, v. 36, n. 1-4, p. 233- 248, 1991.

SASAKI, S. T. **Marcadores orgânicos moleculares como ferramentas no monitoramento ambiental: Avaliação da distribuição de Alquilbenzeno Lineares (LABs) em organismos e sedimentos, como indicativo de exposição ao esgoto em áreas costeiras.** 2012. Tese. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 2012.

SAVICHTCHEVA, O.; OKABE, S. Alternative indicators of fecal pollution: Relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. **Water Research**, v. 40, n. 13, p. 2463-2476, 2006.

SEYFFERT, B. H. **Distribuição e identificação das principais fontes naturais e antrópicas de hidrocarbonetos e esteróides no Complexo Estuarino de Paranaguá (Paraná, BR).** 2008. Tese (Doutorado em Oceanografia Física, Química e Geológica) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

SHAH, V. G.; HUGH DUNSTAN, R.; GEARY, P. M.; COOMBES, P.; ROBERTS, T. K.; VON NAGY-FELSOBUKI, E. Evaluating potential applications of faecal sterols in distinguishing sources of faecal contamination from mixed faecal samples. **Water Research**, v. 41, n. 16, p. 3691-3700, 2007.