

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS COSTEIROS E
OCEANICOS

WELLINGTON CESAR GALLICE

**DINÂMICA DE NUTRIENTES E METAIS NA ÁGUA INTERSTICIAL
DE SEDIMENTOS EM REGIÕES ENTREMARÉS NO COMPLEXO
ESTUARINO DE PARANAGUÁ**

TESE

PONTAL DO SUL

2015

WELLINGTON CESAR GALLICE

**DINÂMICA DE NUTRIENTES E METAIS NA ÁGUA INTERSTICIAL
DE SEDIMENTOS EM REGIÕES ENTREMARÉS NO COMPLEXO
ESTUARINO DE PARANAGUÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sistemas Costeiros e Oceanicos da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências” Sistemas Costeiros e Oceânicos Área de Concentração: Biogeoquímica e Poluição Marinha.

Orientadora: Dra. Eunice da Costa Machado

Co-orientadores: Dra. Ana Luiza Albuquerque
Dr. Marco Tadeu Grassi

PONTAL DO SUL

2015

G168d

Gallice, Wellington Cesar

Dinâmica de nutrientes e metais na água intersticial de sedimentos em regiões entremarés no complexo estuarino de Paranaguá/ Wellington Cesar Gallice. – Pontal do Sul, 2015.

154 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Litoral, Programa de Pós-graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, 2015.

Orientador: Eunice da Costa Machado – Co-orientador: Ana Luiza Albuquerque – Co-orientador: Marco Tadeu Grassi.

Bibliografia: p. 39-46; 72-79.

1. Metais. 2. Difusão em sólidos. 3. Sulfetos. 4. Ressonância paramagnética eletrônica. I. Universidade Federal do Paraná. II. Machado, Eunice da Costa. III. Albuquerque, Ana Luiza. IV. Grassi, Marco Tadeu. V. Título.

CDD: 551.4618



CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS

Centro de Estudos do Mar - Setor Ciências da Terra - UFPR
Avn. Beira-mar, s/nº - Pontal do Sul - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil
Tel. (41) 3511-8644 - Fax (41) 3511-8648 - www.cem.ufpr.br - E-mail: pgsisco@ufpr.br

TERMO DE APROVAÇÃO

Wellington Cesar Gallice

DINÂMICA DE NUTRIENTES E METAIS NA ÁGUA INTERSTICIAL DE SEDIMENTOS EM REGIÕES ENTRE MARÉS NO COMPLEXO ESTUARINO DE PARANAGUÁ

Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor(a)
em Sistemas Costeiros e Oceânicos, da Universidade Federal do Paraná, pela
Comissão formada pelos professores:

Dra. Eunice da Costa Machado (FURG)
Orientadora e Presidente

Dra. Kely Viviane de Souza (UNICENTRO)
Membro Examinador

Dra. Katia Naomi Kuroshima (UNIVALI)
Membro Examinador

Dr. Edson Luiz Seibert (UTFPR)
Membro Examinador

Dr. Marcus Vinicius de Liz (UTFPR)
Membro Examinador

Pontal do Paraná, 31/03/2015.

”Nós não podemos esperar a construção de um mundo melhor sem antes melhorar os indivíduos.” Marie Curie

Dedico essa Tese a minha esposa e filha.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a minha família, principalmente aos dois amores da minha vida, minha esposa Juliana Tracz Pereira, e a minha pequena Sophia Tracz Gallice, (que foi concebida nas primeiras semanas do doutorado), por me darem um propósito, inspiração e incentivo para a realização de todas as etapas desse Projeto.

Aos meus pais, minha mãe Neusa que sempre esteve ao meu lado me incentivando em todos os momentos da minha vida, principalmente insistindo para que eu nunca parasse de estudar. Ao meu pai Latimori que com suas incríveis habilidades manuais e seu conhecimento em mecânica, elétrica, hidráulica e materiais tendo somente o primeiro grau completo, me ajudou a montar e construir diversos artefatos que facilitaram e otimizaram o trabalho. E ao meu irmão Juliano, que me ajudou em um dos períodos mais difíceis, que foram os meses finais do doutorado, ajudando na logística e burocracia da construção da nossa casa.

Um agradecimento especial vai também a minha Orientadora e segunda mãe Profa. Dra. Eunice da Costa Machado, que nesses quatro anos sempre teve paciência para me explicar, ensinar e ajudar em uma área onde tudo era novidade.

Aos meus co-orientadores Profa. Dra. Ana Luiza Albuquerque (UFF) e ao Prof. Dr. Marcos Tadeu Grassi (UFPR), por me ajudarem com seus conhecimentos e com os materiais e equipamentos para realização do trabalho com sulfetos e metais.

A todos que trabalham e passaram pelo Laboratório de Biogeoquímica do Centro de Estudos do Mar, principalmente ao Fabian Sá, que pessoalmente foi a campo me ensinar a fazer as coletas e também a técnica do Laboratório de Biogeoquímica Liciane que me ajudou na logística e análise dos nutrientes.

A Fernanda Martinho, meu braço direito e esquerdo nas coletas, seja nos dias de um calor ou frio extremos, sempre estava em campo me ajudando nas coletas e em laboratório com os dados dos nutrientes.

As minhas amigas do Laboratório de Biogeoquímica Natiely e Luana que me ajudaram com os procedimentos de extração e análise de metais;

Aos meus amigos do Laboratório de Bentos, Fernanda, Eliandro e Moara que me ajudaram com os gráficos, coleta e identificação da macrofauna;

Aos pesquisadores do Laboratório de Projetos e Processos Ambientais (LABPPAM), a Estela pela ajuda na tentativa de acrescentar as substâncias húmicas e fluorescência de matéria orgânica ao meu projeto, ao Prof. Dr. Mangrich por ter me recebido e me tratado tão bem, ainda nos ajudando fornecendo a estrutura e os equipamentos do seu laboratório e com a interpretação dos espectros de EPR e infravermelho. E um agradecimento especial a amiga Marta Doumer por toda a ajuda na parte espectroscópica e de quimiometria.

Ao Prof. Dr. Cesar de Castro Martins e as alunas Ana Dauner, Ana Cabral, Natiely, Luana e Fernanda pela ajuda e parceria em relação aos dados e a montagem do artigo relacionado a hidrocarbonetos.

Ao Prof. Dr. Patricio Zamora e a Profa. Dra. Noemi pela ajuda com a quimiometria;

Ao Professor Rubens (USP) pela ajuda com a parte de geocronologia;

Ao Técnico do Laboratório de Infravermelho (UFPR) Tiago Pedrozo;

A Técnica do Laboratório de Hidráulica e Saneamento (UFPR), Luciane Prado, que nos ajudou com as análises do COD, COT e CIT.

A aluna de Pós Doutorado Ursula (UFF) por me ajudar com a parte dos sulfetos.

Aos meus amigos Edras Pacola e Verônica Quandt pelas aulas, assistências e a insistência em me ensinar o Latex.

Ao Instituto Federal do Paraná e aos gestores de cada Campus, que ajeitaram e flexibilizaram meus horários de trabalho para a execução das coletas e análises. E a todos os amigos e colegas que trabalham comigo que me substituíram nas aulas e me auxiliaram no que fosse possível.

A Universidade Federal do Paraná, que me ofereceu a estrutura de diversos laboratórios gratuitamente para a realização de algumas análises através dos equipamentos multiusuários. E não posso deixar de agradecer a UFPR por todos os 15 anos de estudo (ensino médio técnico, graduação, mestrado e doutorado), sempre me proporcionando ensino gratuito e de qualidade.

Ao Professor Dr. Gregório (Universidade do México) pelas análises de XPS.

A todos Professores, Técnicos e Funcionários do Centro de Estudos do Mar e do Departamento de Química (UFPR).

E finalmente a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para concretização deste trabalho.

RESUMO

A hidrodinâmica das regiões Estuarinas provocam constantes alterações em suas propriedades físicas e químicas e na distribuição de espécies químicas entre a fase particulada e a líquida (água intersticial). Em tais ambientes as espécies químicas, que podem ser de origem natural ou antrópica, encontram-se solubilizadas e/ou em equilíbrio dinâmico com a fase sólida, circulando pelo sedimento através de fluxos difusivos. Esses fluxos que podem ocorrer no sentido ascendente ou descendente, são um dos mais importantes mecanismos no controle do transporte de poluentes dentro de um ambiente estuarino. A quantidade de espécies dissolvidas, somada às condições biogeoquímicas, atividade redox e ao processo de solubilização e/ou precipitação das espécies, dificultam a compreensão e a quantificação dos processos de transporte de poluentes e espécies químicas dentro dos sistemas Estuarinos. Nesse trabalho aplicamos diversas técnicas Analíticas e Espectroscópicas (GC-FID, GC-MS, ICP-OES, EPR, DRX e DRUVIS) na tentativa de compreender melhor essa dinâmica geoquímica ao longo da camada de descontinuidade redox de três planícies entremares, caracterizadas por impactos humanos baixos ou nulos, médio e relativamente altos, localizadas próximo a manguezais no Complexo Estuarino de Paranaguá. O sedimento foi coletado em testemunhos de acrílico e PVC, medindo 30 centímetros de comprimento e 10 centímetros de diâmetro, e a água de contato e intersticial coletadas por meio de cânulas filtrantes de polisulfonamida (Sistema Rhizons). As frações de sedimento e água foram separadas e preparadas de acordo com as respectivas técnicas para a quantificação de espécies químicas, como carbono orgânico total, carbono orgânico dissolvido, carbono inorgânico, sulfetos, fosfatos, nitratos, nitritos, hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, além de espécies metálicas, principalmente ferro e mangânes. A amostragem foi realizada em dois meses de dois períodos de maior e menor precipitação, e acompanhada de medições *in situ* de parâmetros como temperatura, pH e Eh, com posterior análise de granulometria e de porosidade para os sedimentos. A técnica de Difração de Raios-X (DRX) foi utilizada para a caracterização da composição química do sedimento, enquanto as técnicas de Ressonância Paramagnética Nuclear (EPR) e Ultravioleta Vísivel (DRUVIS) forneceram informações espectrais as quais foram correlacionadas com outros espectros e valores quantificados através da Quimiometria.

ABSTRACT

The hydrodynamics of Estuarine regions cause constant changes in their physical and chemical properties and distribution of chemical species between the particulate phase and the liquid (porewater). In such environments the chemical species, which may be of natural or anthropogenic origin are solubilized and/or in dynamic equilibrium with the solid phase, the pellet circulating through diffusive flow. These flows that may occur in the upward or downward, are one of the most important mechanisms in pollutant transport control within an estuarine environment. The amount of dissolved species, added to the biogeochemical conditions, redox activity and solubilization process an/or precipitation of the species, with ease of understanding and quantification of pollutant transport processes and chemical species within the Estuarine systems. In this work we applied different Analytical and Spectroscopic techniques (GC-FID, GC-MS, ICP-OES, EPR, XRD and DRUVIS) in an attempt to better understand this geochemical dynamics along the redox discontinuity layer three Entremares plains, characterized by impacts low or zero human, medium and relatively high, located near mangroves in the estuarine complex of Paranaguá. The sediment was collected from testimonies of acrylic and PVC, measuring 30 centimeters long and 10 centimeters in diameter, and the contact of water and interstitial collected by filtering cannulas polisulfonamida (Rhizons System). The pellet and water fractions were separated and prepared according to the respective techniques for the quantitation of chemical species, as total organic carbon, dissolved organic carbon, inorganic carbon, sulfates, phosphates, nitrates, nitrites, aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, plus metal species, particularly iron and manganese. Sampling was done in two months two periods of higher and lower precipitation, and accompanied by in situ measurements of parameters such as temperature, pH and Eh, with subsequent analysis of particle size and porosity to sediment. The diffraction technique of X-ray (XRD) was used to characterize the pellet chemical composition, while Paramagnetic Resonance Nuclear techniques (EPR) and Ultraviolet Visible (DRUVIS) provided spectral information which were correlated with other spectra and values quantified using the chemometrics.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	– Área de Estudo - Complexo Estuarino de Paranaguá - Eixo Norte-Sul/Leste-Oeste. Os pontos em preto mostram as regiões de coleta, na Baía de Antonina próximo ao Porto de Antonina, na Baía de Paranaguá próximo ao Porto de Paranagua (escolhida por ter características de uma zona de máxima turbidez e na Baía das Laranjeiras, entrada para a Baía de Pinheiros	15
FIGURA 2	– Amostragem dos testemunhos - Dois testemunhos foram amostrados em dois períodos com maior e menor pluviosidade, em três regiões (interna, mediana e externa) no Complexo Estuarino de Paranaguá.	17
FIGURA 3	– Amostragem dos testemunhos - Suporte para a fixação dos testemunhos	17
FIGURA 4	– Tubos preparados com orifícios específicos para o sistema de coleta da água intersticial a entrada dos eletrodos/Utilização do êmbolo para extrusão do sedimento	18
FIGURA 5	– Sistema de coleta da água Intersticial (AI) através do sistema Rizoma ..	19
FIGURA 6	– Sistema de extração e fixação dos AVS nas soluções Tampão Antioxidade Alcalino (TAA) em ambiente inerte.	37
FIGURA 7	– Área de Estudo - Complexo Estuarino de Paranaguá - Eixo Norte-Sul/Leste-Oeste. Os pontos em preto mostram as regiões de coleta, na Baía de Antonina próximo ao Porto de Antonina, na Baía de Paranaguá próximo ao Porto de Paranagua (escolhida por ter características de uma zona de máxima turbidez) e na Baía das Laranjeiras, entrada para a Baía de Pinheiros	51
FIGURA 8	– Difração de Raio-X (DRX) referente às profundidades 1, 7 e 18 centímetros de todas as amostras coletadas em Antonina, Laranjeiras e Paranaguá nos períodos de verão e inverno, respectivamente.	56
FIGURA 9	– Espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) das Amostras de Paranaguá (P) em uma faixa de Campo Magnético de 5000 G	57
FIGURA 10	– Distribuição vertical da concentração de Zinco ($mg.L^{-1}$) e Carbono Orgânico Dissolvido (COD) ($mg.L^{-1}$) nos sedimentos recentes coletadas no período de verão (1 a 4) e inverno (5 a 8) nas baías de Antonina (A), Laranjeiras (L) e Paranaguá (P).	58
FIGURA 11	– Perfis verticais (0-18 cm) de E_h (mV) nos sedimentos coletados no período de verão (1 a 4) e inverno (5 a 8) nas planícies entremarés das baías de Antonina (A), Laranjeiras (L) e Paranaguá (P).	59
FIGURA 12	– Pefis das concentrações de Ferro e Manganês extraídos da fase sólida após a extração dos sulfetos volatilizáveis por acidificação (AVS) em $\frac{mmol}{Kg}$ nas áreas investigadas	59
FIGURA 13	– Pefis das concentrações de Sulfetos extraídos da fase sólida através do processo de volatilização por acidificação (AVS) dada concentração em $\frac{mmol}{Kg}$ nas áreas investigadas	61
FIGURA 14	– Distribuição vertical de Carbono Orgânico Particulado (COP) e Carbono	

	Orgânico Dissolvido (COD).	66
FIGURA 15	– Espectros obtidos através da técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) das Amostras de Laranjeiras (L) em uma faixa de Campo Magnético de 5000 G	67
FIGURA 16	– PCA dos espectros de EPR dos sedimentos do CEP na estação de verão e inverno. Pré-processamento: média e normalização. As amostras A112 e P21 foram consideradas “outliers” e retiradas da PCA. n=235	69
FIGURA 17	– Loadings dos espectros de EPR dos sedimentos do CEP na estação de verão e inverno. Pré-processamento: média e normalização. As amostras 1A12 e 2P1 foram consideradas “outliers” e retiradas da PCA. n=235	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	– Reflexões e fórmulas químicas para alguns minerais	20
TABELA 2	– Atribuições das bandas observadas por DRUV-VIS em amostras de solos.	28
TABELA 3	– Bandas características do espectro de infravermelho	31
TABELA 4	– Resposta dos valores de E_h relacionados com as espécies de minerais encontrados	32
TABELA 5	– Caracterização das zonas de redução e oxidação através dos valores de E_h	32
TABELA 6	– Valores em (mmol. Kg^{-1}) de Sulfetos Volatilizáveis por Acidificação (AVS) encontrados em diversos ambientes.	60
TABELA 7	– Fluxos de Difusão vertical predito (J_i) ($\text{mol.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$) na interface sedimentoágua correspondente ao gradiente entre a água de contato e a água intersticial do primeiro centímetro.	63
TABELA 8	– Comparação entre os valores de Metais Extraídos Simultaneamente (MES) mg.Kg^{-1} (Cd, Cu, Ni, Pb and Zn) encontrados em Estuários comparados com a Diretriz de Qualidade Ambiental do Canadá	63
TABELA 9	– Índice de Qualidade do Sedimento ($\frac{MES-SVA}{COT}$) (USEPA,2008) mmol.Kg^{-1}	65
TABELA 10	– Concentrações de Manganês e Ferro total extraídos da fase sólida das Baías de Antonina (A), Laranjeiras (L) e Parnaguá (P), coletadas 1 to 8 samples collected at profundidades 1-18 cm (1-2-3-4-5-7-9-12-15-18 cm). .	68

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO GERAL	13
1.1	INTRODUÇÃO	13
1.2	OBJETIVOS E METAS	14
1.3	ÁREA DE ESTUDO	15
1.4	COLETA DO SEDIMENTO	16
1.5	COLETA DA ÁGUA INTERSTICIAL	18
1.6	TÉCNICAS UTILIZADAS	20
1.6.1	Difratometria de Raios X (DRX)	20
1.6.2	Espectroscopia Fotoeletrônica de Raios-X (XPS ou ESCA)	21
1.6.3	Granulometria	21
1.6.4	Geocronologia	22
1.6.5	Hidrocarbonetos Alifáticos e Policíclicos	24
1.6.6	Carbono Orgânico, Inorgânico e Total dissolvidos na Água Intersticial (COD,CIT,COT)	26
1.6.7	Coleta da Macrofauna	27
1.6.8	Diffuse reflectance ultraviolet-visible spectroscopy (DRUV-VIS)	27
1.6.9	Ressonância Paramagnética Eletrônica - EPR	28
1.6.10	Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR)	30
1.6.11	Atividade Redox	32
1.6.12	Sulfetos	33
1.6.13	Determinação dos Sulfetos Volatilizáveis por Acidificação (AVS)	36
1.6.14	Metais Extraídos Simultaneamente (SEM)	38
1.6.15	Determinação das concentrações de Ferro e Manganês no sedimento	38
	REFERÊNCIAS	39
2	CAPÍTULO 2 - GEOQUÍMICA DE ELEMENTOS TRAÇO EM PLANÍCIES ENTREMARÉS DE UM SISTEMA ESTUARINO SUBTROPICAL	47
2.1	RESUMO	47
2.2	INTRODUÇÃO	48
2.3	MATERIAIS E MÉTODOS	51
2.3.1	Área de Estudo	51
2.3.2	Amostragem	52
2.3.3	Procedimentos Analíticos	53
2.3.3.1	Potencial Redox (E_h)	53
2.3.3.2	Difratometria de Raios X (DRX)	53
2.3.3.3	Granulometria	53
2.3.3.4	Carbono Orgânico Dissolvido (COD)	53
2.3.3.5	Sulfetos Volatilizáveis por Acidificação (AVS) e Metais Extraídos Simultaneamente (SEM).	53
2.3.3.6	Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)	54
2.3.3.7	Análises dos Dados	54

2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
2.4.1	Características Físicas do Sedimento	55
2.4.2	Distribuição de metais no sedimento e água intersticial	56
2.4.3	Distribuição vertical dos Sulfetos Volatilizáveis por Acidificação (AVS).	60
2.4.4	Metais Extraídos Simultaneamente (SEM)	62
2.5	CONCLUSÃO	70
	REFERÊNCIAS	72
	Anexo A - CAPÍTULO 3 - CARBON, NITROGEN AND PHOSPHORUS	
	DYNAMICS AT THE REDOX INTERFACE OF SUBTROPICAL ESTUARINE	
	INTERTIDAL MUDFLATS	80
	Anexo B - CAPÍTULO 4 - COUPLING SPECTROSCOPIC AND	
	CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES TO THE EVALUATION OF THE	
	DEPOSITIONAL HISTORY OF HYDROCARBONS IN A SUBTROPICAL	
	ESTUARY	108
	Anexo C - CAPÍTULO 5 - 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)	143

1 CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO GERAL

1.1 INTRODUÇÃO

As planícies entremarés constituem um compartimento com intensa atividade biológica, com taxas de produção primária microfitobêntica elevadas e, conseqüentemente, elevadas taxas de remineralização bêntica da matéria biogênica autóctone e alóctone (HERMAN *et al.*, 2001; MIDDELBURG *et al.*, 1996). Tais características se refletem em elevadas biomassas de organismos microbianos, micro e macrobênticos (HEIP *et al.*, 1995), adaptados ao estresse físico conferido pela alta variabilidade físico-química destes ambientes, responsáveis por uma fração substancial do fluxo de energia nestes sistemas estuarinos (HERMAN *et al.*, 1999).

Embora as planícies entremarés representem uma pequena área dos ecossistemas marinhos, apresentam elevado valor em um contexto global e são vitais para preservar a saúde dos ecossistemas costeiros (SPENCER; HARVEY, 2012; BARBIER *et al.*, 2011), já que funcionam como depuradores naturais para os mesmos (SCHROPP *et al.*, 1990).

Nos sedimentos recentes, dispostos nas camadas superficiais da coluna sedimentar, os processos de decomposição e mineralização microbiana da matéria orgânica em carbono e nutrientes inorgânicos dissolvidos estão intimamente associados com a dinâmica física, potencial redox e pH, os quais determinam a disponibilidade de receptores de elétrons (NO_3^- , Mn^{+4} , Fe^{+2} , SO_4^{-2} , CO_3^{-2} , H^+), modulando a diagênese dos metais traço neste compartimento (RIEDEL *et al.*, 2010). A especiação desses metais traço em sedimentos, a sua mobilidade e biodisponibilidade são alteradas basicamente por quatro mecanismos: a atuação das marés na ressuspensão dos sedimentos e mistura na coluna d'água, a relação com a matéria orgânica, a complexação e a carga elétrica no meio aquoso (SOUZA, 2009).

Estes processos estão diretamente ligados à forma química do metal dissolvida, podendo ser de origem antrópica ou natural, que por sua vez percorre o sedimento no sentido ascendente ou descendente através dos fluxos de difusão. Ao entrar em contato com a composição do material particulado e suas condições biogeoquímicas, as espécies dissolvidas

sofrem interações que podem ocasionar precipitação, complexação, sorção ou dessorção.

A distribuição entre a fase particulada e dissolvida é um dos mais importantes mecanismos no controle de transporte de poluentes em estuários, podendo ser influenciado por um elevado número de fatores, entre eles a salinidade, o pH, o equilíbrio oxidação-redução, bioturbação natural ou antrópica e a complexação por ligantes orgânicos e inorgânicos. Ademais, em sedimentos com elevados teores de matéria orgânica, as transformações do enxofre, especialmente a redução microbiana de sulfato (SO_4^{-2}), estão intimamente associadas com as condições redox, as quais por sua vez, controlam a especiação de metais traço.

1.2 OBJETIVOS E METAS

O objetivo principal deste projeto é investigar a dinâmica geoquímica de espécies químicas metálicas em ambientes entremarés com graus de trofia semelhantes e diferentes níveis de antropização no Complexo Estuarino de Paranaguá. Em um contexto mais amplo, este estudo contribuirá para o entendimento das fontes, transporte e destino de elementos traço em sistemas costeiros do Sul do Brasil, com ênfase no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP).

Neste âmbito, pretende-se aqui:

- Analisar a concentração de elementos, com ênfase no Ferro, Mangânes, Zinco, Cromo, Cobre, Chumbo e Cádmiio (Fe, Mn, Zn, Cr, Cu, Pb e Cd), no compartimento sedimento/água intersticial/água suprajacente em três áreas entremarés situadas nas Baías de Antonina e Paranaguá (eixo Leste-Oeste) e na entrada da Baía das Laranjeiras (eixo Norte-Sul) do Complexo Estuarino de Paranaguá.

- Determinar, em caráter espacial e temporal, os fluxos de metais traço na interface água-sedimento nas três Baías do CEP.

- Avaliar a influência das variáveis físico-químicas (pH, Eh, temperatura) com diversas espécies químicas (nutrientes, carbono orgânico dissolvido, espécies de enxofre e nutrientes inorgânicos dissolvidos) associadas às condições hidrodinâmicas e meteorológicas, na dinâmica dos metais nos compartimentos estudados.

- Investigar o papel da coluna sedimentar nas alterações da composição da água intersticial em relação ao sulfeto, fosfato, amônio e metais, instituindo o sedimento como um compartimento armazenador, regulador e/ou fornecedor de nutrientes e metais para a coluna da água influenciando seus níveis tróficos.

- Determinar as características espectroquímicas dos sedimentos e suas relações com

a distribuição de metais, nutrientes, matéria orgânica e propriedades físicas e químicas do sedimento.

1.3 ÁREA DE ESTUDO

O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), formado pelas baías de Antonina, Paranaguá e Laranjeiras (Fig.1), ocupa uma área de 256 km² e seu eixo principal se estende até 50 km continente adentro no sentido Leste-Oeste. A estratificação salina ocorre principalmente durante marés de quadratura associadas a chuvas intensas e nos demais períodos, as águas do setor externo, localizado na região próxima a desembocadura, são bem misturadas e existe uma progressiva estratificação em direção ao interior do estuário (MARONE; JAMIYANAA, 1997). O regime de marés é semidiurno com desigualdades diurnas, em que as marés de sizígia variam de 1,7 m na desembocadura a 2,7 m no interior do estuário (MARONE *et al.*, 2005). Os sedimentos de fundo da Baía de Paranaguá são compostos por siltes finos a areias finas pobremente selecionadas.

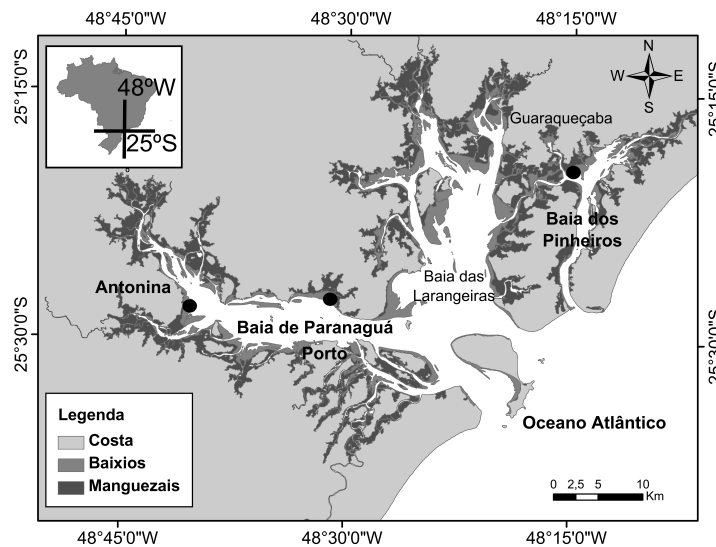


Figura 1: Complexo Estuarino de Paranaguá - Eixo Norte-Sul/Leste-Oeste.

Segundo LANA *et al.* (2000), a estrutura e o funcionamento do sistema estuarino são influenciados por diferentes gradientes. A hidrodinâmica é regida pela força da maré e descarga fluvial (MACHADO *et al.*, 1997). Devido à força de frentes frias, eventos de tempestade podem elevar o nível do mar em até 80 cm acima do nível das marés astronômicas. A temperatura média anual é de 21,1 °C e a precipitação média anual se situa entre 2000 mm e 2500 mm (LANA *et al.*, 2000). A estação tipicamente chuvosa começa no final da primavera e dura até o final do verão, enquanto a estação seca vai do outono até o final do inverno, mas

é interrompido por um pequeno e fraco período chuvoso no início do inverno (LANA *et al.*, 2000).

As principais atividades econômicas desenvolvidas nessa baía relacionam-se às atividades do Porto de Paranaguá, onde movimentou cerca de 9,7 milhões de toneladas no primeiro semestre de 2014, e o Porto de Antonina, com uma movimentação de 1 milhão de toneladas no primeiro semestre de 2014, entre eles soja, farelo, milho, sal, açúcar, fertilizante, contêineres, congelados, derivados de petróleo, álcool e veículos (<http://www.portosdoparana.pr.gov.br>).

Outro fator importante é a proximidade direta do CEP com a dinâmica das duas cidades, Paranaguá com cerca de 142500 habitantes e Antonina com cerca de 19414 habitantes (IBGE 2014). Além dessas atividades, a baía suporta atividades relacionadas à pesca artesanal, importante para boa parte da população local. Os estudos já realizados na Baía de Paranaguá sugerem que a dinâmica dos processos biogeoquímicos é complexa, podendo ser relacionada com o regime de circulação do estuário (aporte de água doce, correntes, marés e frentes frias), processos de troca entre a baía e a plataforma continental adjacente, interação entre o sedimento e coluna d'água, atividade biológica e perturbações antropogênicas.

1.4 COLETA DO SEDIMENTO

Duas amostragens em dois meses de dois períodos, de maior e menor pluviosidade, foram programadas para os anos de 2013 e 2014 (Fig.2). Testemunhos de acrílico com 30 cm de comprimento e 10 cm de diâmetro, contendo sedimento e a água de contato suprajacente, foram coletados em três Baías com diferente enriquecimento orgânico e diferentes graus de antropização e hidrodinâmica no Complexo Estuarino de Paranaguá: Baía de Antonina, Baía de Paranaguá, ambas no eixo Leste-Oeste e Baía das Laranjeiras no eixo Norte-Sul (Fig.7).

Em cada ponto amostral foram coletados dois testemunhos. In situ foram retiradas alíquotas da água intersticial, e efetuou-se a mensuração dos valores de Eh, temperatura e pH do sedimento e da água de contato nas profundidades de 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 15 e 18 centímetros. O sedimento foi preservado em ambiente refrigerado e transportado com os devidos cuidados para o Laboratório de Biogeoquímica do Centro de Estudos do Mar, onde imediatamente foram fatiados nas mesmas profundidades para realização das análises de quantificação : Sulfetos Voláteis por Acidificação (SVA), Metais Extraídos Simultaneamente (SEM), granulometria e amostras das profundidades (1, 3, 5, 7, 15 cm), para cálculo da porosidade usado no coeficiente de difusão. Um testemunho foi retirado nos pontos de Paranaguá e Antonina especialmente para

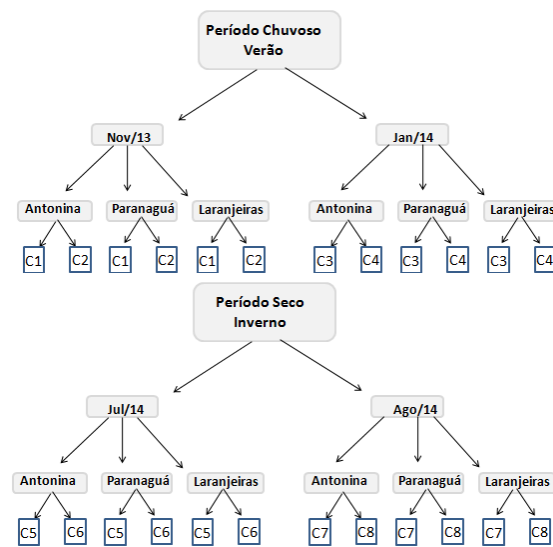


Figura 2: Amostragem em dois períodos com maior e menor pluviosidade, em três regiões (interna, mediana e externa) no Complexo Estuarino de Paranaguá.

determinação da Geocronologia, taxa de sedimentação e a quantificação dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e os Hidrocarbonetos Alifáticos.

Após a coleta, os testemunhos foram colocados em um suporte construído para retenção dos tubos, para que se tivesse o mínimo de movimentação e grau de impacto produzidos pela maré, movimentos do barco ou durante o procedimento de coleta, prezando-se a conservação de sua estrutura química interna (Fig. 3). A amostragem dos testemunhos foi realizada por meio de tubos de acrílico adaptados com orifícios específicos para o sistema de coleta da água intersticial (Rizomas) e dos eletrodos.



Figura 3: Suporte para a fixação dos testemunhos

Devido a imperfeições no formato (ovalado) dos tubos, o que provocava o vazamento da água intersticial, foram desenvolvidas tampas de nylon específicas para a parte superior e inferior de cada tubo para sanar o problema. Um êmbolo de nylon e borracha e um cilindro torneado de madeira também foram produzidos a fim de facilitar o deslocamento do sedimento dentro do tubo para a sua extrusão e segmentação (Fig. 4).



Figura 4: Tubos preparados com orifícios específicos para a coleta da água intersticial a entrada dos eletrodos/Utilização do êmbolo para extrusão do sedimento

1.5 COLETA DA ÁGUA INTERSTICIAL

A coleta da água intersticial foi realizada a partir dos orifícios específicos nos tubo de acrílico através do sistema Rizomas (SEEBERG-ELVERFELDT *et al.*, 2005), constituídos de pequenas cânulas poliméricas porosas (polisulfona) com 2,5 mm de diâmetro e 10 cm de comprimento. Seus poros de absorção possuem diâmetro de 0,1 μm . Na seção interna é possível observar uma haste fina que tem o objetivo de impedir que o sistema seja totalmente prensado dentro da coluna de sedimento. Esse sistema é conectado a uma seringa. A seção filtradora do sistema é totalmente introduzida no sedimento, a água intersticial que passa pelos poros é coletada na seringa, onde é produzido vácuo permanente, ajudando na preservação da amostra (Fig. 5) (BECK *et al.*, 2008)

O estudo de SEEBERG-ELVERFELDT *et al.* (2005) estima, através de modelos matemáticos e cálculos de fluxo, um volume máximo de amostra de água intersticial que deve ser coletado quando se utiliza uma segmentação do sedimento de 1 cm, demonstrando que os volumes de água da parte superior e inferior não sejam interferentes na amostra de água intersticial coletada. A resolução vertical mínima interna em um perfil de água intersticial é equivalente à área de drenagem do Rizoma próxima à seção filtradora (Equação 1). Uma primeira estimativa da área de influência pode ser calculada através do raio (r) do tubo que



Figura 5: Sistema de coleta da água Intersticial (AI) através do sistema Rizoma

contém o sedimento, o qual representa a alíquota de sedimento contendo a água intersticial a ser extraída. Assim o raio de drenagem pode ser calculado pela seguinte equação

$$r = \sqrt{\frac{V_a}{\phi \cdot \pi \cdot l}} \quad (1)$$

r = raio de drenagem, V_a = volume da amostra, ϕ = porosidade do sedimento, l = comprimento da seção filtradora em cm.

De acordo com a média de porosidade do nosso sedimento, o raio de drenagem ao redor do tubo polimérico dos Rizomas é de aproximadamente 0,795 cm. A partir desse resultado foram preparados novos tubos com espaçamento de 1 cm entre os orifícios para a coleta da água intersticial. Imediatamente após a coleta, as seringas foram limpas e guardadas dentro de embalagens lacradas em ambiente refrigerado.

Após os reagentes estarem preparados, as embalagens das seringas foram abertas e o volume de água intersticial (AI) separado para cada análise: 4 mL de AI foram acidificados com HNO_3 suprapuro (5 %) (V/V) e diluídos até 5 mL para análise dos metais (Cr, Ni Zn, Cd, Pb e Cu), 1 mL de AI foi acidificado com HNO_3 suprapuro (5 %) (V/V) e diluído até o volume de 5 mL para análise dos metais (Fe e Mn), 2 mL foram acidificados com H_2SO_4 (0,5 %) (V/V) para análise do Carbono Orgânico Dissolvido (COD), Carbono Orgânico Total (COT) e Carbono Inorgânico Dissolvido (IC), e 3 mL foram diluídos para a análise de nutrientes (N-amoniacal, Fosfato, Nitrato-Nitrito).

Todas as coletas relacionadas foram realizadas em regiões entremarés na tentativa de amostrarmos sedimentos finos, segundo testes preliminares realizados nas coletas piloto, totalizando 240 amostras e 5832 análises, o que nos fornece um n significativo para os testes estatísticos posteriores. Três (3) amostras foram descartadas devido à existência de galhos,

conchas e pedras na profundidade específica, não conseguindo a quantidade de sedimento suficiente para as análises.

1.6 TÉCNICAS UTILIZADAS

1.6.1 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (DRX)

Os raios-X constituem uma radiação eletromagnética de comprimento de onda curto produzida pela aceleração ou desaceleração de elétrons de alta energia ou pelas transições de elétrons dos orbitais internos dos átomos. O intervalo de comprimento de onda dos raios-X vai de cerca de 10^{-5} Å até 100 Å. A difração de raios-X convencional utiliza radiação com comprimentos de onda na região de 0,1 Å até 25 Å.

As fontes de raios-X, como os emissores de ultravioleta e visível, frequentemente produzem tanto um espectro de linhas como um contínuo; ambos são importantes na análise. A radiação contínua também é chamada de radiação branca ou Bremsstrahlung, que significa radiação que vem da desaceleração de partículas, tal radiação geralmente é contínua por natureza (SKOOG, 2002).

Os máximos de difração de raios-X (devido à interferência construtiva em uma família de planos de uma rede cristalina) ocorrem quando a direção de uma onda incidente, medida em relação à superfície de um plano de átomos, e o comprimento de onda da radiação obedecem a lei de Bragg (ATKINS, 1999). Algumas reflexões são observadas na Tabela 1.

Tabela 1: Reflexões e fórmulas químicas para alguns minerais

Minerais	Fórmula Química	Reflexões
Goetita	$Fe^{+3}O(OH)$	4,21, 2,69, 2,44, 2,18 e 1,72 Å
Ferreidrita	$Fe_2O_3.n.H_2O$	2,45, 2,25 e 1,95 Å
Gipsita	$Al(OH)_3$	4,34, 3,35, 2,44, 2,37, 1,98 e 1,65 Å
Albita	$NaAlSi_3O_8$	4,02, 3,77, 3,66, 3,21 e 3,18 Å
Quartzo	SiO_2	4,25, 3,35, 2,45, 2,28, 2,23, 2,12, 1,98, 1,82, 1,67, 1,54 e 1,45 Å
Caulinita	$Al_2Si_2O_5(OH)_4$	7,15, 3,57, 2,55, 2,49 e 2,33 Å
Mica	$NaAl_2(AlSi_3O_{10}(OH)_2)$	10,6, 4,48, 3,19, 2,58E 1,98 Å
Clorita	$Mg - Fe - Al - Si - Al - O - OH$	7,09 e 1,54 Å
Biotita	$K(Mg, Fe^{+2})(Al, Fe^{+3})Si_3O_{10}(OH, F)_2$	3,337, 2,66, 2,54 e 2,18 Å
Manganita	$Mn^{+3}OH(OH)$	3,38, 2,62, 2,41, 2,26 e 1,66 Å

A técnica de difração é usada para identificar amostras de substâncias sólidas, comparando-se as posições e as intensidades das linhas de difração com as de um grande número de dados devidamente registrados (ATKINS, 1999). Assim a técnica é útil na identificação

de minerais e elucidação de suas estruturas (FERREIRA, 2006).

Obteve-se os difratogramas das amostras utilizando-se o difratômetro Shimadzu XRD-6000 com radiação $Cu - K\alpha$ ($\lambda = 1,5418$), com tensão e corrente de fonte de 40 kV e 40 mA, respectivamente, com os ângulos de varredura ($\frac{2\theta}{\theta}$) de 10 a 80 graus.

1.6.2 ESPECTROSCOPIA FOTOELETRÔNICA DE RAIOS-X (XPS OU ESCA)

A técnica XPS é baseada em um processo de fotoemissão de elétrons extremamente rápido segundo a equação de Einstein:

$$BE = h.\nu - K.E \quad (2)$$

onde:

BE = energia do elétron no átomo dentro do orbital dado;

$h.\nu$ = energia da fonte de raios X;

K.E = Energia cinética do elétron desprendido medido pelo espectômetro de XPS.

A caracterização dos sinais obtidos é realizada utilizando funções matemáticas e a atribuição de cada pico é feita através da comparação com um banco de dados como o Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) ou literatura.

A especiação das diferentes formas de enxofre e Ferro nas amostras foi realizada através de espectroscopia fotoeletrônica de raios-X (XPS ou ESCA) em um aparelho VG Microtech/Multilab ESCA 2000, que utiliza raios-X de magnésio 44 e vácuo em torno de 10^{-10} mmHg. Esta é uma técnica útil no estudo de moléculas ou átomos no estado sólido. Ela consiste no bombardeio da amostra com fótons sendo medida a distribuição de energia dos elétrons ejetados (fotoelétrons). Cada elemento tem um conjunto característico de picos devido aos diferentes níveis eletrônicos. Todos os espectros foram obtidos à temperatura ambiente no Centro de Nanociências e Nanotecnologia na Universidad de Guadalajara - Campus Ensenada (México).

1.6.3 GRANULOMETRIA

A capacidade de retenção de sedimentos em ambientes é caracterizada por condições geomorfológicas e dinâmicas, as quais são uma função do compartimento disponível para a sedimentação relacionado com a quantidade de sedimentos recebidos no balanço sedimentar

(PERILLO; SYVITSKI, 2010).

A Distribuição do tamanho do grão foi medido com um Microtrac Bluewave S3500, um instrumento baseado na difração a laser. Os tamanhos de partículas entre 0,02 e 2,000 mm pode ser detectada.

Para a análise, 1 g de sedimento seco de cada amostra foi tratado com 10% de peróxido de hidrogênio e ácido clorídrico 10%, com a finalidade de remover a matéria orgânica e carbonatos. Uma pequena alíquota do material foi injetada no módulo de dispersão do analisador. O método descrito por Folk e Ward (1957) foi usado para estimar os parâmetros de sedimentos que utilizam Rysgran R pacote (GILBERT *et al.*, 2012).

1.6.4 GEOCRONOLOGIA

A geocronologia é uma ferramenta interessante quando se precisa associar a contaminação de uma determinada amostra a um fato ou efeito causado ao decorrer da história. Em sedimentos essa datação pode ser associada a períodos pré impactantes, origem de compostos orgânicos, associação a processos biogeoquímicos.

Um dos processos de datação mais robusto na área ambiental é a utilização do ^{210}Pb . Entre as diversas espécies químicas do Chumbo destaca-se o mínio ou zarcão (Pb_3O_4). Devido às características isotópicas do zarcão e sua ampla ocorrência na maioria das rochas ígneas, sedimentares e metamórficas, é comum sua utilização para a datação em sedimentos na tentativa de visualizar impactos recentes em períodos razoavelmente curtos (aproximadamente 100 anos), além de permitir o cálculo da taxa de sedimentação.

A metodologia aplicada aos experimentos utilizou duas espécies de chumbo, o $^{210}\text{Pb}_{exc}$ que é a espécie não suportada radiologicamente, e o $^{210}\text{Pb}_{sup}$, que é a espécie que se mantém em equilíbrio com ^{226}Ra .

São determinadas as concentrações de $^{210}\text{Pb}_{exc}$ utilizando as concentrações de $^{210}\text{Pb}_{sup}$ obtidas nas camadas mais superiores. Sabendo-se que com o aumento da profundidade a taxa de $^{210}\text{Pb}_{exc}$ tende a zero, quando um valor constante da concentração de chumbo total é atingido. O valor então é subtraído das concentrações das camadas acima. Isso corrige a concentração de $^{210}\text{Pb}_{exc}$, sendo utilizado para o cálculo da taxa de sedimentação

$$A_{Pb210} = \frac{C_{am} - C_b}{RQ.m.E\beta \cdot (1 - e^{-\lambda(B_i^{210})-t})} \quad (3)$$

Onde:

A_{Pb210} = atividade radiométrica do Pb^{210} ;

C_{am} = contagem da amostra (Bq);

C_b = contagem do "branco" (Bq);

RQ = rendimento químico obtido através de análises químicas de Pb;

m = massa da amostra (Kg);

E_β = eficiência final de contagem beta do ^{210}Bi ;

$-\lambda(Bi210)$ = constante de desintegração do $^{210}Bi = 0,1383 d^{-1}$;

t = tempo em dias, transcorrido entre a precipitação do $PbCrO_4$ e a contagem.

Para o cálculo da atividade do $^{210}Pb_{excesso}$ corrigida pelo efeito da compactação, faz-se necessário o cálculo da porosidade (ϕ) de cada secção do sedimento (Equação 4):

$$\phi = \frac{\%H_2O}{[(100 - \%H_2O) \cdot \rho + \%H_2O]} \quad (4)$$

A atividade de $^{210}Pb_{excesso}$ corrigida pelo efeito da compactação pode ser calculada pela equação (Equação 5):

$$A_{corrigida} = A_{Pb210} \cdot h \cdot \rho (1 - \phi) \quad (5)$$

onde:

A_{Pb210} = atividade $^{210}Pb_{excesso}$ na secção em questão ($Bq Kg^{-1}$)

h = altura da fatia de sedimento (cm)

ρ = densidade do sedimento ($g.cm^{-1}$)

Para o cálculo das idades das fatias de sedimentos, aplica-se uma integração dos valores das atividades de acordo com a seguinte equação:

$$t = \lambda^{-1} \cdot \ln \frac{A_\infty}{A_x} \quad (6)$$

onde:

t = idade (anos) de uma determianda fatia;

λ = constante de decaimento do $^{210}\text{Pb} = 0,0311 \text{ ano}^{-1}$;

$A_{\infty} = \sum A_o \rightarrow \infty$ atividade integrada (mBq cm^{-2}) da superfície até $A = 0$;

$A_x = \sum A_o \rightarrow_x$ atividade integrada (mBq cm^{-2}) até a seccão em questão. (*fonte* : www.maxwell.vra.puc-rio.br/15681/156813.pdf, acessado 20/04/2014).

Os níveis de radionuclídeos nas amostras foram realizadas através da leitura da radiação γ do ^{226}Ra e por meio dos seus produtos de decaimento, como o ^{214}Bi , com pico de 609 keV, utilizando a tecnica de espectrometria γ . Para esta análise, foi necessário aguardar a formação do equilíbrio entre o ^{222}Rn , intermediário na cadeia, e o ^{226}Ra . Assim, um período de aproximadamente 20 dias foi aguardado antes das análises das amostras.

Um detector de germânio hiperpuro, tipo GMX 25190P, acoplado a um analisador multicanal SPECTRUM MASTERTM, modelo 92X-II, conectados a um microcomputador contendo um programa de aquisição de dados, foi utilizado para a determinação dos níveis de ^{210}Pb , ^{137}Cs e ^{226}Ra . O equipamento utilizado nas análises pertence ao Laboratório de Espectrometria Gama do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IOUSP).

A calibração do detector foi realizada por meio da medida da atividade radioativa empregando-se materiais de referência, constituindo-se de sedimentos marinhos da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA): Code 150A, IAEA-300, IAEA-327 e IAEA-385. A concentração Mínima Detectável (CMD) corresponde à menor atividade, que possui um grau de confiança de 95 % , e foi igual a $0,56 \text{ Bq kg}^{-1}$. Os resultados obtidos para a eficiência de contagem a partir dos materiais de referência utilizados bem como o cálculo da CMD são detalhados em (VENDRAME, 2007).

O decaimento de cada amostra foi contado durante 120.000 segundos. Os espectros gerados foram processados no software específico (MAESTRO II for Windows) e as atividades do ^{210}Pb , ^{137}Cs e ^{226}Ra foram determinadas pela medição direta do pico gama em 47 keV, 661.66 keV e 609 keV, respectivamente. Foram contados 11 canais dos espectros gerados para as análises efetuadas, número visto como ideal para a determinação dos níveis (SAITO *et al.*, 2001) e (FUKUMOTO, 2007).

1.6.5 HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS E POLICÍCLICOS

A análise dos marcadores orgânicos geoquímicos seguiu o método adaptado de READMAN *et al.* (1986), (UNEP, 1992) e (USEPA, 1996, 1994).

As amostras foram extraídas em Soxhlet durante 8 horas. Uma massa de 15 g de sedimentos foram adicionados a uma mistura de 50% em volume de n-hexano e

diclorometano (DCM) como solventes de extração. Argolas de cobre foram usadas para a retirada do enxofre inorgânico. Foi acrescentada uma solução de padrões subrogados, contendo eicoseno, hexadeceno (para a determinação de HAs), 1-C12 (para a determinação dos alquil benzeno lineares (LABs)), policíclicos aromáticos deuterados (naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d12 para a determinação de HPAs).

Após esse procedimento, o extrato resultante foi concentrado em evaporador rotativo a vácuo até 2mL e inserido em uma coluna de adsorção contendo 3,2g de sílica gel e 1,8g de alumina, ambas desativadas com água a 5%, e sulfato de sódio. Para o fracionamento das diferentes classes orgânicas, foram utilizadas três eluições de solventes.

A primeira eluição foi feita com 10 mL de n-hexano, para obtenção dos hidrocarbonetos alifáticos, isoprenoides e LABs, formando a fração F1. A segunda eluição foi feita com 15 mL de uma solução com 30% de DCM em n-hexano, obtendo-se os hidrocarbonetos aromáticos, formando a fração F2. Já a terceira eluição foi feita com 5 mL de uma solução (1:9) etanol:DCM, seguida de 20 mL de etanol, para recuperar os esteroides e n-alcanóis, formando a fração F3. Novamente, as frações foram levadas ao evaporador rotativo a vácuo.

Os extratos das frações F1 e F2 foram concentrados até 0,5 mL, transferidos para ampolas de vidro âmbar e a eles adicionado um padrão interno cromatográfico (F1 – tetradeceno e 1-C19LAB, F2 – benzo(b)fluoranteno-d12). Já as amostras de F3 foram totalmente secas no evaporador, e os resíduos resultantes foram recuperados com DCM e transferidos para frascos de injeção. Essas amostras foram então secas com nitrogênio gasoso e nelas adicionadas 50 μ L do reagente N,O-bis(trimetil-silil-trifluor-acetamida)/trimetil-clorosilano (BSTFA/TMCS – 99 : 1), para a realização da reação de derivação. Os frascos foram mantidos por 90 min a 75°C, e, após esse período, as amostras foram novamente secas em nitrogênio. Por fim, os resíduos resultantes da derivação foram recuperados com n-hexano, transferidos para ampolas de vidro âmbar de 1 mL, e adicionadas com padrão interno cromatográfico (5 α -colestano).

Os HAs foram identificados e quantificados através da injeção de 2 μ L do extrato final em um cromatógrafo a gás (Agilent GC 7890A), equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID). A coluna cromatográfica utilizada para o método de HAs foi a Agilent 19091J – 433 de 30 cm de comprimento, 250 μ m de espessura do filme e 0,25 μ m de diâmetro interno, enquanto a coluna utilizada no método de esteroides foi a Agilent 19091J-015 de 50,0 m de comprimento, 320 μ m de espessura do filme e 0,17 μ m de diâmetro interno.

A quantificação foi realizada a partir da integração dos picos dos compostos através do programa HP Chemstation (G2070 BA), determinando o fator de resposta de cada composto

em relação aos padrões subrogados e os tempos de retenção dos padrões externos, gerando uma curva de calibração para cada composto analisado. Para a quantificação das amostras, considerou-se a área de cada composto multiplicada pelo fator de resposta do mesmo, presente na curva de calibração, em relação à razão massa/área do padrão subrogado adicionado em cada amostra no início de cada extração. Os tempos de retenção coincidentes com o verificado nas amostras foram considerados como sendo dos mesmos compostos (MARTINS, 2001).

A curva de calibração para cada composto foi obtida a partir de nove concentrações diferentes (0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 2,50; 5,00; 7,50 e 10,00 e 15,00 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$), incluindo a origem do gráfico. O índice de correlação linear de Pearson foi igual ou superior a 99,5% ($r^2 = 0,995$) para todos os compostos analisados.

Os HPAs e o LABs foram obtidos através da injeção de 2 μL da amostra em um cromatógrafo a gás (Agilent GC 7890) acoplado a um espectrômetro de massa 32 (Agilent 5975C inert MSD with Triple-Axis Detector) no modo SIM (System Ion Monitoring), sendo registrados apenas os picos relacionados aos dois principais fragmentos (m/z) característicos de cada um dos compostos analisados. A lista completa dos fragmentos característicos pode ser verificada em MARTINS (2005) para os HPAs e MARTINS *et al.* (2010) para os LABs. A coluna capilar utilizada (Agilent 19091J-433) apresenta as mesmas características da coluna utilizada na determinação dos HAs.

Os picos obtidos no GC/MS foram integrados por um sistema de processamento de dados (HP Enhanced Chemstation G1701 CA). A quantificação dos HPAs e LABs foi feita de forma semelhante aquela apresentada para os HAs, porém considerando a área do fragmento principal de cada composto analisado (MARTINS, 2005). A curva de calibração para cada composto foi obtida a partir de oito concentrações diferentes (0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50 e 2,00 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$), nos quais o índice de correlação linear de Pearson foi igual ou superior a 99,5% ($r^2 \leq 0,995$) para todos os compostos analisados. A identificação de HPAs e LABs foi baseada nos tempos de retenção dos padrões externos e nos fragmentos característicos de cada composto (MARTINS, 2005). Os limites de detecção do método utilizados variaram entre as classes de composto (DAUNER, 2012).

1.6.6 CARBONO ORGÂNICO, INORGÂNICO E TOTAL DISSOLVIDOS NA ÁGUA INTERSTICIAL (COD,CIT,COT)

O Carbono Orgânico Dissolvido (COD) está associado com a decomposição da matéria orgânica, a qual está diretamente ligada ao nível trófico dos compartimentos, podendo indicar sistemas oligotróficos, mesotróficos e eutróficos ou até mesmo compartimentos poluídos.

Para a análise da concentração do COD, foram utilizados 3 mL de amostra diluídos em 50 ml de água ultra-pura e acidificada com H_2SO_4 na proporção de 0,5 % (V/V), sendo congeladas em vidro âmbar até a hora da análise. Essa primeira diluição produziu alguns resultados próximos do limite de detecção do equipamento, em que esses volumes de amostra e diluição tiveram que ser alterados.

Para a análise alíquotas de 2 ml de cada amostra de água intersticial foram diluídas (2:22 V/V) com água ultrapura e fixadas com H_2SO_4 (0,5%). A análise de COD foi efetuada através do método de Combustão em Alta Temperatura (High Temperature Combustion HTC) em um analisador Shimadzu TOC-5000, provido de um catalisador de alumina platinado (GUO, 1994), no Departamento de Engenharia Ambiental (UFPR) – Engenharia Sanitária.

1.6.7 COLETA DA MACROFAUNA

A coleta foi realizada durante a maré baixa de sizígia, com amostrador de 10 cm de diâmetro interno e 15 cm de altura, onde foram obtidos 3 testemunhos de amostras (macrofauna) ao redor de cada testemunho de sedimento coletado. As amostras de macrofauna foram fixadas em solução de formol 4%, lavadas em peneira com malha de 0,5 mm e preservadas em álcool a 70% com adição do corante Rosa de Bengala. Os organismos foram triados e identificados até a menor resolução taxonômica possível.

1.6.8 DIFFUSE REFLECTANCE ULTRAVIOLET-VISIBLE SPECTROSCOPY (DRUV-VIS)

O uso de análises espectroscópicas de ultravioleta visível por refletância na região do visível (DRUV-VIS) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) em análises de monitoramento ambiental apresentam vantagens por serem técnicas rápidas, baratas e não destrutivas. Como não são técnicas quantitativas, devem ser usadas como ferramenta para a identificação e correlação.

A técnica de DRUV-VIS pode fornecer estruturas inorgânicas relacionadas ao íon Fe^{+3} (FUKAMACHI *et al.*, 2007) e também para identificar grupos aromáticos policondensados e/ou isolados como as existentes na matéria orgânica. A técnica consiste na absorção da radiação pelas moléculas onde seus elétrons são excitados a níveis mais altos de energia. Essas transições eletrônicas podem ocorrer com elétrons de diferentes tipos de orbitais como por exemplo em ligações σ e π ligante e antiligante (Tab. 2) (DRAGO, 1992).

Outra informação útil fornecida pelo DRUV-VIS são as correlações dadas para a

matéria orgânica. A matéria orgânica em sua grande maioria é formada por substâncias húmicas (SH), conhecidas por conter sistemas de ligações duplas conjugadas aleatoriamente distribuídas nas macromoléculas, as quais são responsáveis por sua coloração marrom. A avaliação da cor marrom dos Ácidos Húmicos (AH), baseados em suas propriedades óticas, pode ser utilizada na indicação do grau de humificação (BUDZIAK, 2002). A absorção de luz pelas SH parece aumentar com: o grau de condensação dos anéis aromáticos que estas substâncias contem; a taxa de C em núcleo aromático e C em cadeias alifáticas laterais; conteúdo total de C e a massa molecular. A absorbância de soluções aquosas de AH e ácidos fúlvicos (AF) em 465 e 665 nm (razão E4/E6) e 270 e 407 nm (razão A2/A4) são utilizadas para caracterização destes materiais (ROSA *et al.*, 2000).

Tabela 2: Atribuições das bandas observadas por DRUV-VIS em amostras de solos.

λ (nm)	Transições
260	LMCT, $O^{-2} \rightarrow Fe^{+2}$
290 - 310	${}^6A_1 \rightarrow {}^4T_1({}^4P)$ (Goetita)
360 - 380	${}^6A_1 \rightarrow {}^4E_1({}^4D)$ (Goetita)
415	${}^6A_1 \rightarrow {}^4E, {}^1A_1({}^4G)$ (Hematita)
440 - 480	$2({}^6A_1) \rightarrow 2({}^4T_1({}^4G))$ (Goetita)
480 - 550	${}^6A_1 \rightarrow {}^4E, {}^4A_1({}^4G)$ (Hematita)
640	${}^6A_1 \rightarrow {}^4T_2({}^4G)$
900	${}^6A_1 \rightarrow {}^4T_1, ({}^4G)$

Para as análises de DRUV-VIS foi utilizado um espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC, equipado com uma esfera acessório 240-52454-01 integração. As amostras de sedimento foram secas em estufa a uma temperatura de 55°C, trituradas com o auxílio de um pistilo e almofariz e em seguida colocadas cuidadosamente dentro da célula do acessório. Os espectros foram convertidos para a função de Kubelka-Munk. A função de Kubelka-Munk tende a normalizar o espectro melhorando a visualização dos picos. A equação é definida por:

$$f_{KM} = \frac{(1 - R)^2}{2R} = \frac{k}{s} \quad (7)$$

Onde: R é a reflectância, k é o coeficiente de absorção e s é o coeficiente de dispersão.

1.6.9 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA - EPR

A técnica de EPR (sigla em inglês para ressonância paramagnética eletrônica) permite analisar amostras sólidas, líquidas e gasosas. As principais informações geradas são: fator g, que é o fator giromagnético para o elétron (corresponde a 2,0023 para o elétron livre),

largura de linha, intensidade do sinal e separação entre as linhas detectadas, informações sobre a concentração de elementos paramagnéticos, o seu estado de valência e simetria, pode-se determinar os átomos ligantes de íons metálicos, localizar e identificar radicais livres, detectar a presença de alguns íons de transição, como o Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Mo^{+3} e os radicais livres orgânicos do tipo semiquinona (RLO).

Em relação aos íons de ferro, a espectroscopia EPR é ativa para Fe^{+3} em complexos de baixa ou alta rotação em baixa ou alta concentração (MANGRICH *et al.*, 2009). Desta forma, a técnica EPR pode ser útil para investigar condições redox nos sedimentos, como o conteúdo de Fe^{+2} do sedimento que aumenta continuamente de cima para baixo, com concomitante diminuição do ferro férrico (KAPPLER *et al.*, 2004). Existem duas principais regiões típicas de íons Fe^{+3} em complexos de spin alto nos espectros EPR.

A primeira delas são campos magnéticos abaixo de 3000 G, com g-valores em torno de 9,0 (cerca de 750 G), 5,0 (1400G), 4,3 (1500 G) e 3,5 (cerca de 1750 G) e 2.8 (2500G). Esta região do EPR dos espectros de Fe^{+3} é caracterizada de domínio diluído, onde centros de Fe^{+3} são encontrados isolados. Sendo uma linha simétrica de centros de Fe^{+3} de spin alto, $ST = 5/2$, em sítio de simetria rômica. Estes sítios são ditos de domínios diluídos de Fe(II).

Neste sítio, o fator g é da ordem de 4,2 – 4,3, e corresponde a transição 34XYZ. Isto é, uma transição 34, $-1/2 + 1/2$, nos eixos de magnetização x, y e z. Dessa forma, o número 34 vem da sequência de ordem crescente de energia para os dubletos de Kramer do sistema, $ST = \frac{5}{2}$: $ms = -\frac{5}{2}(1)$, $ms = -\frac{3}{2}(2)$, $ms = -\frac{1}{2}(3)$, $ms = +\frac{1}{2}(4)$, $ms = +\frac{3}{2}(5)$, $ms = +\frac{5}{2}(6)$. Em outros casos podem ocorrer transições, ainda para íons Fe^{+3} , de alto spin, mas em sítios um pouco mais simétricos, dando, no entanto, espectros de EPR anisotrópicos. Estes sítios são considerados também de domínios diluídos de Fe^{+3} , mas ditos de Fe(II). As linhas destes sítios aparecem com fatores g da ordem de: $g \approx 5$, transição 34X; $g \approx 3,5$, transição 34Y; e $g \approx 2,9$, transição 34Z. Para estes sítios é comum também, uma transição do tipo 12Y em $g \approx 9$ (SILVA, 2001).

Outra região centrada em valores de 2,0 g (3500 G), é conhecida como de domínio concentrado devido á interação magnética dipolo-dipolo entre centros do Íon Fe^{+3} . Além disso, o largo sinal em $g = 2$ aponta a presença de metais paramagnéticos, tais como Mn^{+2} com uma estrutura hiperfina de seis linhas (POLAK *et al.*, 2011) e radical orgânico livre (LESVEN *et al.*, 2010).

A técnica de EPR de forma resumida, detecta espécies contendo elétrons desemparelhados, ou seja, espécies paramagnéticas. Um elétron em um átomo apresenta uma rotação de força angular intrínseca e um momento angular orbital devido à circulação em torno do núcleo. Ambos momentos angular podem ter apenas valores quantizados em um átomo e

podem ser atribuídos números quânticos específicos. Cada um destes movimentos do elétron origina um momento magnético

Para os espectros de minerais se observam linhas de íons Fe^{+3} em diferentes simetrias dadas as substituintes isomórficas deste dentro da organização cristalina dos minerais. A banda relacionada á matéria orgânica possui linhas do centro I de ferro, com $g = 4,3$ (1500 G), nos domínios diluídos, que consiste da interação de íons Fe^{+3} aos grupos funcionais da matéria orgânica. Todos os espectros dos sedimentos apresentaram absorções em $g \approx 4,3$ (1500 G).

O espectro de EPR foi registrado em espectrômetro Bruker EMX, em temperatura ambiente, operando em banda-X (aproximadamente 9,5 GHz), empregando 100 kHz de frequência e campo magnético de 5000 gauss. As medidas de EPR foram efetuadas com amostras sólidas pulverizadas em que, o sólido foi acondicionado em tubo de quartzo e levado para análise no aparelho. O equipamento esta localizado no Departamento de Química – UFPR.

1.6.10 FOURIER TRANSFORMED INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR)

A técnica também é usada em análises de monitoramento ambiental, pois apresenta as mesmas vantagens da DRUV-VIS. Da mesma forma, por não ser uma técnica quantitativa, deve ser usada como ferramenta para a identificação e correlação.

A técnica do FTIR é utilizada em estudos de vários materiais, incluindo sedimentos, na intenção de identificar substâncias orgânicas, bem como na caracterização de metais e minerais como na identificação de estruturas tais como grupos carboxilas, aminas, amidas, estruturas alifáticas e aromáticas, óxidos-hidróxidos metálicos e silicatos (Tab.3)(NIEMEYER *et al.*, 1992).

A radiação refletida de uma superfície depende basicamente da natureza das partículas que compõem o meio. Ela consiste de duas etapas: primeiro a radiação pode ser especular, caracterizada pela radiação que é refletida da superfície da amostra, onde esta possui o mesmo ângulo de incidência. Ou pode ser radiação refletida por difusão, onde a leitura se faz após a penetração de uma porção do fluxo incidente no interior da amostra, retornando à superfície com a absorção parcial e múltiplos espalhamentos nas interfaces de partículas individuais, das quais a amostra é composta.

A radiação não interage da mesma forma com a amostra. Apresenta diferentes caminhos através da mesma, diferentes profundidades de penetração, diferentes números de choques e um diferente número de espalhamento nas interfaces.

Na ausência de absorção, com espessura infinita e com múltiplos espalhamentos,

um máximo de radiação retorna à superfície. Quando ocorre absorção, a radiação é transmitida e espalhada nas interfaces e no interior da amostra antes de retornar à superfície (MESSERSCHMIDT, 1999).

O tamanho, a forma das partículas, o espaço livre entre elas e o grau de compactação, afetam a quantidade (concentração) do material através do qual a radiação é transmitida.

A energia eletromagnética na região do infravermelho é absorvida pelas moléculas alterando as frequências específicas de cada ligação (nível vibracional). Tais frequências variam e são dependentes da superfície de energia potencial da molécula, geometria molecular, massas dos átomos e eventualmente do acoplamento vibrônico.

Os espectros na região do infravermelho próximo (NIR) e infravermelho médio (MIR) foram obtidos através do equipamento Bio-Rad FTS 3500 GX espectrômetro (EUA). Os espectros foram registrados inicialmente no comprimento de onda na faixa do NIR 7000-4000 cm^{-1} e MIR 4000-400 cm^{-1} , com uma resolução de 8 cm^{-1} e uma média de 64 varreduras.

Tabela 3: Bandas características do espectro de infravermelho

Número de Onda (cm^{-1})	Atribuições
2 ν de C – H de alifáticos	5848
Combinação ν e δ ou 3 ν C = O carboxílicos, cetonas e amidas primárias.	5263-5181
3 ν de C=C (anel aromático)	4608
3 ν deformação C-H (alifáticos)	4330
3 ν deformação de CH_3	4100
ν OH (caulinita)	3700
ν AlO-H, ν Fe-O-H e SiO-H (argilas)	3700-3600
ν AlO-H, ν FeO-H(argilas) e/ou OH(fenol, H_2O , ν NH.	3440-3300
ν CH (aromáticos, olefinas)	3100-3070
ν CH (CH_2 e CH_3 de alifáticos)	2930-2850
2 ν vibração C=O (-COOH)	2500
2 ν vibração C-O (carboidratos)	2500
(Si-O) quartzo	2000-1790
ν C=O (ésteres, cetonas, ácidos carboxílicos), ν C=C (aromáticos)	1735-1700
ν C=O (COO^- , amida), δ OH (H_2O), ν	
C=C(anel aromático ou alifático insaturado), ν C=N	1660-1610
ν C=C (anel aromáticos) amida, δ CH (CH_3)	1600-1500
δ CH (CH_3), ν C=O (COO^-)	1400-1300
ν C=O (COOH), ν C-OH (aromáticos)	1260
C-C (alifáticos), ν C-O de carboidratos, álcoois e ésteres	
Si-O-C de substâncias poliméricas, Si-O(M.O)	1200-1000
Si-O e Al-O	1400-1020
Al-OH (caulinita)	938-912
Si-O-Al e Si-O-Fe	800-750
Si-O-Al	640-527
Si-O-Al	476

1.6.11 ATIVIDADE REDOX

As medidas da atividade redox (E_h) representam uma importante informação analítica, pois auxiliam na caracterização dos ciclos biogeoquímicos que compreendem os processos de troca de matéria e energia entre os vários compartimentos ambientais. Essa medida é dada através da atividade ou transferência dos elétrons dentro do sedimento, estando relacionados diretamente ao pH, concentração de oxigênio e espécies oxidantes e redutores do meio.

Muitos minerais encontrados nos ambientes são os grandes responsáveis pelo processo de oxidação da matéria orgânica, iniciando todo o ciclo biogeoquímico, destacando-se entre esses a goetita e hematita. São de grande valia porque indicam a intensidade do sedimento em relação as condições redutoras ou oxidantes, podendo ser realizadas in situ e ajudam na identificação da mais variadas espécies químicas, principalmente metais (Tab.4).

Em condições redutoras, principalmente em ambientes de manguezais ou próximas, o sedimento pode apresentar grandes concentrações de sulfetos formadores de complexos insolúveis, controlando o equilíbrio do compartimento, especialmente entre alguns metais bivalentes (Hg, Cd, Ni, Pb, Fe, Mn e Zn) (USEPA, 1999).

Tabela 4: Resposta dos valores de E_h relacionados com as espécies de minerais encontrados

Sistema	E_o (mV)
$[Fe(CN)_6]^{-3}/[Fe(CN)_6]^{-4}$	+ 430
$[Fe(III)NTA]/[Fe(II)citrato]$	+ 385
$[Fe(III)citrato]/[Fe(II)citrato]$	+ 372
Ferridrita / Fe^{+2}	\pm 100
γ .FeOO(lepidocrocita)/ Fe^{+2}	-88
AQDS/AHQs	-184
Substâncias Húmicas	\pm 200
γ .Fe.(goetita)/ Fe^{+2}	-274
γ .Fe ₂ O ₃ (hematita)/ Fe^{+2}	-287
γ .Fe ₃ O ₄ (magnetita)/ Fe^{+2}	-314

Segundo (QUINAGLIA, 2012), os valores de Eh encontradas no sedimento podem sugerir algumas zonas características (Tab. 5).

Tabela 5: Caracterização das zonas de redução e oxidação através dos valores de E_h

Zona	E_o (mV)
Oxidação	\geq +300 associado a respiração aeróbica
Redução (NO_3^- e Mn^{+4})	+100 à +300 (respiração aeróbica facultativa)
Redução (SO_4^{-2})	-200 à -100
Redução (CH_4)	\leq -200

O potencial redox do sedimento foi determinado em campo com o auxílio de um

eletrodo do tipo redox Analion Ag_2S/S^{2-} (ROX 673P-entrada BNC), combinado com um eletrodo referência de Ag/AgCl, modelo 064, conectado a um medidor de Redox Eh específico Analion modelo ROX-500. Os potenciais do eletrodo redox foram constantemente verificados através do uso de uma solução Padrão Redox (Analion) $220 \pm 5mV$ ($25^\circ C$).

1.6.12 SULFETOS

O sedimento em regiões entremarés é caracterizado por apresentar frequentemente elevado aporte de matéria orgânica. Devido ao meio anaeróbico e aos processos de redução bacteriana do sulfato (RBS) (GIBLIN *et al.*, 1989), o enxofre age de maneira direta ou indireta nos processos de mineralização da matéria orgânica na forma de sulfeto, auxiliando diretamente nos processos de ciclagem do fósforo e outros metais como ferro e mangânes, determinando a biodisponibilidade e potencial de acumulação em ambientes anóxicos (COUTURE *et al.*, 2011). Esse processo de redução pode representar de 2 a 51% do carbono orgânico oxidado no sedimento (JORGENSEN, 1982).

Os teores totais de enxofre apresentam uma distribuição similar à encontrada para os teores de carbono orgânico e são considerados, junto com o ferro, como os principais responsáveis pela degradação da matéria orgânica. Teoricamente apresentam uma correlação positiva na superfície, mas a medida que a profundidade aumenta verifica-se uma correlação inversa indicando uma provável incorporação do enxofre através do processo de piritização (OTERO; MACIAS, 2002).

Além da RBS, a mineralização da matéria orgânica no sedimento pode ser efetuada através de outros receptores de elétrons, como o oxigênio, óxidos e oxidróxidos de ferro ou da soma de fatores que determinam a disponibilidade desses elementos. Tais processos promovem a remoção de algumas formas mais tóxicas (HS^- e Fe^{+2}) da água intersticial, sendo um sumidouro de espécies tóxicas como ferro (II), manganês (II) ou enxofre e alguns metais do compartimento (KOSTKA; LUTHER, 1995).

Outro aspecto interessante dos compostos piríticos é a coloração característica dos sulfetos de ferro (vermelho amarelado e preto), que associados à coloração característica das substâncias húmicas, podem ser medidas por técnicas espectroquímicas.

Segundo CHAPMAN (1996), a qualidade do sedimento está diretamente relacionada com a biodisponibilidade de espécies químicas potencialmente tóxicas e o efeito que este surte na biota.

Vários estudos tentam representar numericamente a qualidade do sedimento com a

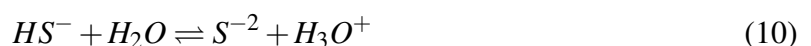
finalidade de avaliar seus efeitos adversos. Esses valores são difíceis de serem determinados por causa das diferenças regionais, onde a composição do sedimento, hidrodinâmica, granulometria, o clima e as propriedades físico-químicas específicas influenciam diretamente essa biodisponibilização das espécies químicas presentes.

Um dos principais modelos que surgiram nos últimos 20 anos se baseia no equilíbrio de partição entre o sedimento e a água intersticial, levando em consideração a biodisponibilidade de algumas espécies químicas metálicas. Outro modelo muito utilizado é conhecido como modelo estatístico, que se baseia na concentração das espécies metálicas e o efeito de contaminação que estas causam em organismos. Dentro dessa abordagem o Conselho Canadense do Ministério do Meio Ambiente (CCME, 1999) criou duas definições: TEL (“Threshold Effect Level”) em que as concentrações abaixo do TEL representam quase nenhum tipo de efeito à biota e o PEL (“Probable Effect Level”), em que as concentrações acima do PEL podem ocasionar alguns efeitos nocivos à biota. E se os valores ficarem entre o TEL e o PEL, o efeito nocivo pode ou não acontecer (MARIANI, 2006).

Estudos realizados por DITORO *et al.* (1990), mostram que o enxofre pode ser considerado um dos principais controladores da disponibilidade de metais em ambientes aquáticos. Alguns metais se ligam fracamente nas estruturas cristalinas de alguns monossulfetos diageneticamente instáveis no ambiente, denominados Sulfetos Volatilizáveis por Acidificação (AVS). Estes monossulfetos são predominantemente de Fe (mackinawita/ $(Fe, Ni)S_{0,9}$ e greigita/ Fe_2S_4), onde esse Fe pode ser substituído por metais bivalentes (Metais Extraídos Simultaneamente (MES), formando monossulfetos mais insolúveis ($Zn < Pb < Cu < Ni < Cd < Hg$ por ordem decrescente do produto de solubilidade). Quando a concentração molar do MES for maior que a concentração molar do AVS, os metais citados podem estar biodisponíveis no meio, conforme estudos experimentais (DITORO *et al.*, 1990).



$$K_1 = \frac{[HS^-][H_3O^+]}{[H_2S]} \quad (9)$$



$$K_2 = \frac{[S^{-2}] \cdot [H_3O^+]}{[HS^-]} \quad (11)$$

$$[S_{total}^{-2}] = [H_2S] + [HS^-] + [S^{-2}] \quad (12)$$

$$[H_2S] = \frac{[S_{total}^{-2}]}{\left(\frac{1+K_1}{[H_3O^+]} + K_1 \cdot k_2 \cdot [H_3O^+]^2\right)} \quad (13)$$

A partir desta associação foi estabelecido uma relação entre o excesso de sulfeto nos sedimentos, comparado com a concentração molar dos metais bivalentes, e também na não manifestação de toxicidade aguda em organismos-teste. Sendo assim a USEPA (2008), desenvolveu uma série de estudos que relacionaram o resultado da $\Sigma[MES] - [AVS]$ com a porcentagem de mortalidade considerada tóxica (24% de mortalidade) em testes de toxicidade, sendo indicados alguns limites que representam a qualidade do sedimento:

(a) caso $\Sigma[MES] - [AVS] < 1,7 \text{ mmol.kg}^{-1}$, não há manifestação de toxicidade;

(b) caso $1,7 \text{ mmol.kg}^{-1} < \Sigma[MES] - [AVS] < 120,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$, a manifestação de toxicidade é incerta;

(c) caso $\Sigma[MES] - [AVS] > 120,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$, há manifestação de toxicidade.

Posteriormente realizou-se um estudo mais detalhado, em que verificou-se que a normatização com carbono orgânico total (COT) do cálculo do excesso de sulfeto em relação aos metais gerava previsões mais seguras, com limites de incerteza menores (USEPA, 2008). O índice de qualidade do sedimento pode ser calculado segundo a equação:

$$\frac{(MES - AVS)}{COT} \quad (14)$$

A partir desse cálculo, foi determinado que a toxicidade:

(a) provável, quando o resultado for $> 3000,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$;

(b) incerta, quando o resultado for entre 130,0 e 3000,0 mmol.kg^{-1} ;

(c) não provável, quando o resultado for $< 130,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$.

Diversos trabalhos questionam a utilização somente desse índice para identificar a biodisponibilidade dos metais, porque além dos sulfetos, a própria matéria orgânica, condições físico-químicas e composição mineralógica podem incorporar espécies metálicas no sedimento.

1.6.13 DETERMINAÇÃO DOS SULFETOS VOLATILIZÁVEIS POR ACIDIFICAÇÃO (AVS)

Todas as diluições para calibração ou determinação de sulfetos foram realizadas em uma solução Tampão Alcalina Antioxidante (TAA) com variação de pH entre 13,4 e 13,6. A solução foi preparada a partir de 18 g de NaOH, 16,2 g de ácido ascórbico e 72 g de salicilato de sódio para 1 litro de água Mili-Q (CHRISTENSEN *et al.*, 1998) e otimizado por SCHNITZLER e GRASSI (2009).

A utilização da solução TAA foi escolhida entre várias por proporcionar maior estabilidade na espécie Sulfeto. O elevado pH reduz a perda das espécies S^{-2} por volatilização em comparação a outras espécies de enxofre existentes em pH mais reduzido como monossulfetos HS^{-} e ácido sulfídrico H_2S . SCHNITZLER e GRASSI (2009) mostrou que a fixação dos sulfetos na solução TAA permaneceu praticamente estável por uma média de 30 dias.

Para a realização da curva analítica fez-se adição de uma solução padrão de $Na_2S \cdot 9H_2O$, variando-se a concentração de $1 \cdot 10^{-8}$ a $1 \cdot 10^1 \text{ mol.L}^{-1}$. A resposta do eletrodo redox apresentou uma faixa linear correspondente a $2 \cdot 10^{-5}$ até $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$, As outras faixas não apresentaram um comportamento Nerstiano. Foram realizados testes de recuperação onde foram obtidos valores concordantes com os valores propostos pela APHA (1995) que indica que a recuperação média fica entre 80-120%. A American Society for Testing and Materials e American Public Health Association (1983, (SILVERIO, 2003), sugere valores de recuperação de sulfetos em águas entre 80 a 120 %.

O eletrodo redox de Ag/Ag_2S apresentou uma faixa dinâmica de trabalho entre $2 \cdot 10^{-5}$ até $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$, apresentando coeficiente de correlação linear $R=0,99726$. Os parâmetros limite prático de detecção (LPD) e o limite inferior de resposta linear (LIRL) foram determinados e apresentaram valores $\leq 2 \cdot 10^{-5}$ e $\geq 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$, respectivamente. Segundo Li *et al.* (2000), existem algumas vantagens em utilizar este tipo de eletrodo devido á sua praticidade. A membrana altamente seletiva de Ag_2S , resulta em respostas rápidas e sem a necessidade de pré-condicionamento.

O sistema de extração e fixação dos AVS consiste de um balão de fundo redondo de 250 mL, onde um conector com duas saídas laterais e uma superior é fixado na parte superior do balão. Na parte superior do conector é colocado um septo para a introdução de ácido no início do processo. Uma mangueira de PVC é conectada em umas das saídas laterais até um cilindro de nitrogênio e na outra saída lateral, outra mangueira é conectada a dois frascos interligados contendo 100 mL cada um da solução TAA (Fig.6).

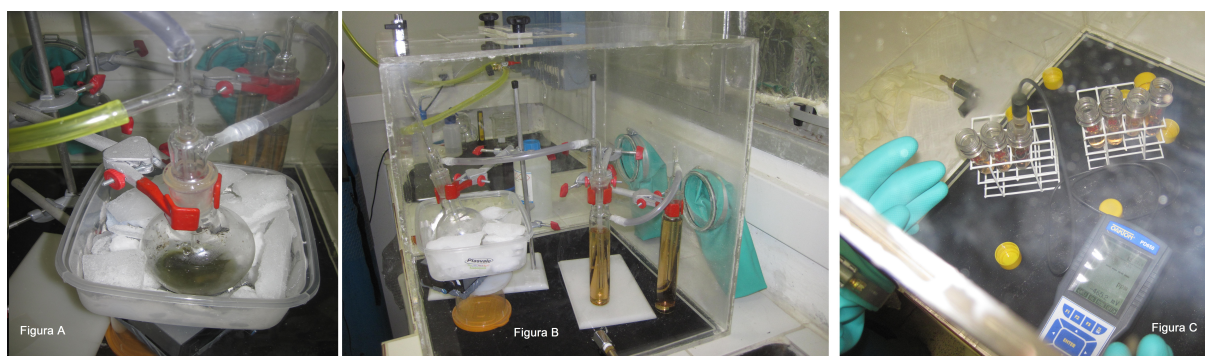


Figura 6: Sistema de extração e fixação dos AVS nas soluções Tampão Antioxidade Alcalino (TAA) em ambiente inerte

A calibração do eletrodo redox Ag_2S/S^{-2} foi realizada de acordo com o manual do multiparâmetro OAKTON, preparando-se soluções com concentrações de 0,001 à 1000 ppm (1.10^{-8} até $1.10^2 \text{ mol.L}^{-1}$), mergulhando o eletrodo e aguardando a estabilização para leitura do potencial em ambiente inerte. Para cada nova leitura o eletrodo era lavado inicialmente com água deionizada, uma segunda lavagem com uma solução ácida ($HCl 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$), novamente com água deionizada e por fim ambientado com a solução TAA Fig.6A.

Para o procedimento de extração, aproximadamente 5 g de sedimento foram colocados no balão e este foi submerso em um recipiente com água e gelo (Fig.6), sob agitação e um fluxo de nitrogênio de aproximadamente 48 mL/min. Após o funcionamento do sistema e a verificação de nenhum vazamento de gás, foram adicionados, através do septo, 20 mL de ácido clorídrico (6M). A mistura do ácido e sedimento permaneceu sob agitação durante 60 minutos. O ácido tem a função de desprender as espécies de sulfetos do sedimento, as quais serão carregadas até a solução fixadora (TAA), por meio de um fluxo de nitrogênio (SCHNITZLER; GRASSI, 2009) Fig.6B.

Após a extração, foram retirados 5 mL da solução TAA de cada recipiente coletor e adicionados 10 μL de uma solução estoque $1.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ de $Na_2S \cdot 9H_2O$ realizando em seguida a leitura através de um sensor redox potenciométrico para íon seletivo (ANALION) Ag_2S/S^{-2} , conectado a um multiparâmetro OAKTON modelo WP 600 Fig.6C.

Todas as leituras relacionadas a sulfetos foram realizadas em ambiente inerte (N_2) dentro de um glove box construído em acrílico especialmente para esse objetivo Fig.6C.

Para avaliar a eficiência do método de extração dos AVS foi utilizada uma solução padrão de $Na_2S \cdot 9H_2O 1,029 \text{ mg.L}^{-1}$, obtendo-se três replicatas com uma recuperação média de $89,4 \% \pm 4,8$.

1.6.14 METAIS EXTRAÍDOS SIMULTANEAMENTE (SEM)

A solução restante no balão do processo de extração dos AVS, foi filtrada ($0,45 \mu\text{m}$), diluída e quantificada através de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES). A calibração foi realizada com soluções preparadas a partir de solução estoque (Perkin Elmer). As concentrações de AVS e SEM estão expressas em base de peso seco por grama de sedimento.

1.6.15 DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE FERRO E MANGANÊS NO SEDIMENTO

Digestão das amostras

As amostras de sedimento obtidas após a determinação dos AVS foram submetidas à digestão seguindo o método SW-3051-A (USEPA,), através do forno de micro-ondas. A técnica consiste na exposição da amostra a radiação de micro-ondas em um processo de aquecimento gradual, partindo-se da temperatura ambiente do sedimento até 180°C , sendo realizada em alta pressão (aproximadamente 350 psi). O tempo programado da rampa de aquecimento, patamar e resfriamento foi de 1 hora para cada amostra. Após a digestão as amostras foram filtradas, colocadas em balões volumétricos e diluídas para a quantificação.

A quantificação dos metais precipitados com os AVS no sedimento foi realizada através de ICP-OES, com Plasma de Argônio Acoplado Indutivamente. O equipamento utilizado neste trabalho foi um ICP-OES (Perkin Elmer-Optima 7000 DV), no laboratório de Biogeoquímica Marinha – Campus Centro de Estudos do Mar (CEM), localizado em Pontal do Sul – PR.

A calibração realizada foi do tipo externa e o modelo estatístico adotado na regressão linear foi o método dos mínimos quadrados. Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo as equações (X e Y), respectivamente. Na equação x, s representa o desvio padrão amostral de 10 leituras do branco da curva de calibração (água Mili-Q acidificada com HNO_3 suprapuro (MERCK)), e a representa o coeficiente angular da equação da reta.

REFERÊNCIAS

- ALI, S. A.; CLARK, W. J.; MOORE, W. R.; DRIBUS, J. R. Diagenesis and reservoir quality. **Oilfield Review**, n. 2, p. 15–27, 2010.
- ALLEN, H. E.; FU, G.; DENG, B. Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 1441–1453, 1993.
- APPA. <http://www.portosdoparana.pr.gov.br/>. **Administração Porto de Paranaguá**, 2014.
- ATKINS, P. W. **Físico Química**. [S.l.]: Físico-Química 6 edição., 1999.
- BARBIER, E. B.; HACKER, S. D.; KENNEDY, C.; KOCH, E. W.; STIER, A. C.; SILLIMAN, B. R. The value of estuarine and coastal ecosystem services. **Ecological Monographs**, v. 81, n. 2, p. 169–193, 2011.
- BECK, M.; DELLWIG, O.; SCHENETGER, B.; BRUMSACK, H. Cycling of trace metals (Mn, Fe, Mo, U, V, Cr) in deep pore waters of intertidal flat sediments. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 72, p. 2822–2840, 2008.
- BREEMEN, N.; BUURMAN, P. **Soil Formation**. [S.l.]: Kluwer: Netherlands, 376p, 1998.
- BUDZIAK, C. R. **Grupos Ácidos e Capacidade de Oxidação de Ácidos Húmicos como Método de Avaliação de Processos de Compostagem**. Dissertação (Mestrado) — UFPR, 2002.
- CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R.; READMAN, J. W.; FILEMAN, T. W.; MACKO, S. A.; VEIGA, A. Changes in the sedimentary organic carbon pool of a fertilized tropical estuary, guanabara bay, brazil: an elemental, isotopic and molecular marker approach. **Marine Chemistry**, v. 79, p. 207–227, 2002.
- CAVALLO, G.; ZORZIN, R. Geology, petrography, mineralogy, geochemistry of natural fe-based pigments from verona province (italy). In: **Proceedings of the 39th International Symposium for Archaeometry**. [S.l.: s.n.], 2012. p. 9–15.
- CHAPMAN, D. **Water Quality Assessment: A Guide to the Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring**. [S.l.]: 2 Ed., 1996.
- CHRISTENSEN, J.; HOYER, B.; KRYGER L.AND PIND, N.; KONG, L. S. Sulfides in the anaerobic environment: the determination of hydrogen sulfide and acid-soluble metallic sulfides in sea-floor sediment. **Journal of Chemical Education**, v. 75, p. 1605, 1998.
- CLARK, M. Management implications of metal transfer pathways from a refyse tip to mangrove sediments. **The Science of Total Environment**, v. 222, p. 17–34, 1998.

COSTELLO, D. M.; HAMMERSCHMIDT, C.; BURTON, G. A. Copper sediment toxicity and partitioning during oxidation in a flow-through flume. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 11, p. 6926–6933, 2015.

COUTURE, R.; WALLSCHLAGER, D.; MITCHELL, K.; VANCAPELLEN, P. Geochemical behavior of (thio)arsenates with ferro - minerals. **Mineralogical Magazine**, v. 75, p. 609 – 711, 2011.

DAUNER, A. L. L. **Caracterização molecular das fontes naturais e antrópicas da matéria orgânica sedimentar na região de Potter Cove, Ilha Rei George, Antártica**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Paraná, 2012.

DITORO, D.; MAHONEY, J.; HANSEN, D.; SCOTT, K.; HICKS, M.; MAYR, S.; REDMOND, M. Toxicity of cadmium in sediments: The role of acid volatile sulfide. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 9, p. 1487–1502, 1990.

DOLLHOPF, M.; NEALSON, K.; SIMON, D.; III, G. L. Kinetics of Fe^{+3} and Mn^{+4} reduction by the black sea strain of shewanella putrefaciens using in situ solid state voltametric Au/Hg electrodes. **Marine Chemistry**, v. 70, p. 171 – 180, 2000.

DRAGO, R. S. **Physical Methods for Chemistry**. [S.l.]: 2 th. Edition, 1992.

DULNEE, S.; SCHEINOST, A. C. Surface reaction of snii on goethite (FeOOH): Surface complexation, redox reaction, reductive dissolution, and phase transformation. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 16, p. 9341–9348, 2014.

FANG, C.; SMITH, P.; MONCRIEFF, J.; SMITH, J. U. Similar response of labile and resistant soil organic matter pools to changes in temperature,. **Nature**, v. 433, p. 57–59, 2005.

FERREIRA, A. **Caracterização Química e Espectroscópica de ácido húmicos e sedimentos retirados da Baía de Guaratuba-PR e Avaliação do nível de poluição ambiental**. Dissertação (Dissertação) — UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 2006.

FLYNN, T.; O'LOUGHLIN, E.; MISHRA, B.; DICHRISTINA, T.; KM., K. Sulfur-mediated electron shuttling during bacterial iron reduction. **Science**, 2014.

FOLK, R. L.; WARD, W. C. A study in the significance of grain size parameters. **Journal of Sediment**, v. 27, p. 3–26, 1957.

FORSTNER, U.; SALOMONS, W. Trace metal analysis of polluted sediments, part i, assessment of sources and intensities. – 505. **Environmental Technology**, v. 1, n. 11, p. 494, 1980.

FörSTENER, U.; WITTMANN, G. T. W. **Metal Pollution in the Aquatic Environment**. [S.l.: s.n.], 1979.

FUKAMACHI, C.; WYPYCH, F.; MANGRICH, A. Use of Fe^{+3} ion probe to study the stability of urea-intercalated kaolinite by electron paramagnetic resonance. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 313, n. 2, p. 537–541, 2007.

FUKUMOTO, M. M. **Determinação da história deposicional recente do Alto Estuário Santista, com base nos teores de metais e na suscetibilidade magnética dos sedimentos**. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo, 2007.

- GAO, Z.; HORTON, R.; LIU, H.; WANG, L. Influence of wave phase difference between surface soil heat flux and soil surface temperature on land surface energy balance closure. **Hydrology and Earth System sciences**, v. 6, p. 1089–1110, 2009.
- GIBLIN, A.; PETERSON, B.; FRY, B. **The controls of sulfur storage in lake sediments by interactions among the carbon, iron, oxygen and sulfur cycles**. [S.l.]: MA-USA NSF Proposal, 1989.
- GILBERT, E.; CAMARGO, M.; SANDRINI-NETO, L. **Grain size analysis, textural classifications and distribution of unconsolidated sediments**. 2012.
- GONZALEZ, N. R.; ALBA, M.; ORTA, M. Remediation of metal-contaminated soils with the addition of materials—part i: Characterization and viability studies for the selection of non-hazardous waste materials. **Chemosphere**, v. 85, p. 1511–1517, 2011.
- GUO, Y. Studies on heterosigma akashiwo (hada) hada in the dalian bight, liaoning, china. sin. haiyang-yu-huzhao. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 25, n. 2, p. 211–215, 1994.
- HANSEL, C. M.; LENTINI, C. J.; TANG, Y.; JOHNSTON, D. T.; WANKEL, S. W.; JARDINE, P. Dominance of sulfur-fueled iron oxide reduction in low-sulfate freshwater sediments. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, doi:10.1038/ismej.2015.50, 2015.
- HEIMBURGER, L.-E.; MIGON, C.; LOSNO, R.; MIQUEL, J. C.; THIBODEAU, B.; STABHOLZ, M.; DUFOUR, A.; LEBLOND, N. Vertical export flux of metals in the mediterranean sea. **Deep-Sea Research I**, v. 87, p. 14–23, 2014.
- HEIP, C. H. R.; GOOSEN, N. K.; HERMAN, P. M. J.; KROMKAMP, J.; MIDDELBURG, J. J.; SOETAERT, K. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries. **Oceanography and Marine Biology Annual Reviews**, v. 33, p. 1–150, 1995.
- HERMAN, P. M. J.; MIDDELBURG, J. J.; KOPPEL, J. V. D.; HEIP, C. H. R. Ecology of estuarine macrobenthos. **Advances in Ecology Research**, v. 29, p. 195–240, 1999.
- HERMAN, P. M. J.; MIDDELBURG, J. J. H.; R., H. C. H. Benthic community structure and sediment processes on an intertidal flat: results from the ecoflat project. **Continental Shelf Research**, v. 21, p. 2055–2071, 2001.
- HOWARTH, R. W. Pyrite. its rapid formation in a salt marsh and its importance in ecosystem metabolism. **Science**, v. 203, p. 49–51, 1979.
- JINGCHUN, L.; CHONGLING, Y.; SPENCER, K. L.; RUIFENG, Z.; HAOLIANG, L. The distribution of acid-volatile sulfide and simultaneously extracted metals in sediments from a mangrove forest and adjacent mudflat in zhangjiang estuary, china. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 1209–1216, 2010.
- JORGENSEN, B. Mineralization of organic matter in the sea bed – the role of sulfate reduction. **Nature**, v. 296, p. 643–645, 1982.
- KAPPLER, A.; BENZ, M.; SCHINK, B.; BRUNE, A. Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a freshwater sediment. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 47, p. 85–92., 2004.

KOSTKA, J.; LUTHER, G. Seasonal cycling of Fe in saltmarsh sediments. **Biogeochemistry**, p. 159–181, 1995.

LANA, P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. The subtropical estuarine complex of paranaguá bay, brasil. **Coastal Marine Ecosystems of Latin America**, v. 144, p. 131–145, 2000.

LESVEN, L.; LOURINO-CABANA, B.; BILLON, G.; RECOURT, P.; OUDDANE, B.; MIKKELSEN, O.; BOUGHRIET, A. On metal diagenesis in contaminated sediments of the deûle river (northern france). **Appl. Geochemistry**, v. 25, p. 1361–1373., 2010.

LI, G.; POLK, J. B.; MEAZELL, L. A. AND HATCHETT, D. W. Ise analysis of hydrogen sulfide in cigarette smoke. **Journal of Chemical Education**, v. 77, p. 1049, 2000.

MACHADO, C. **Caracterização química do material particulado em suspensão e sedimentos superficiais na zona de máxima turbidez no eixo leste - oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), PR, BRASIL**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Paraná., 2005.

MACHADO, E. C.; DANIEL, C.; BRANDINI, N.; QUEIROZ, R. L. V. Temporal and spatial dynamics of nutrients and particulate matter in paranaguá bay, pr, brazil. **Nerítica**, v. 11, n. 1-2, p. 15–34, 1997.

MACKAY, A. P.; MACKAY, S. Spatial distribution of acid-volatile sulphide concentration and metal bioavailability in mangrove sediments from the brisbane river, australia. **Environmental Pollution**, v. 93, p. 205–209, 1996.

MAN, K.-W.; ZHENG, J.; LEUNG, A.; LAM, P.; LAM, M.-W.; YEN, Y.-F. Distribution and behavior of trace metals in the sediment and porewater of a tropical coastal wetland. **Science of the Total Environment**, v. 327, p. 295–314, 2004.

MANGRICH, A.; SILVA, L.; PEREIRA, B.; MESSERSCHMIDT, I. Proposal of an epr based method for pollution level monitoring in mangrove sediments. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 294–298, 2009.

MARIANI, D. **Reservatório Rio Grande: caracterização limnológica da Água e biodisponibilidade de metais-traco no sedimento**. Dissertação (Mestrado) — UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006.

MARONE, E.; JAMIYANAA, D. Tidal characteristics and a numerical model for the m2 tide at the estuarine complex of the bay of paranaguá, paraná, brazil. **Nerítica**, v. 11, n. 1-2, p. 95–107, 1997.

MARONE, E.; MACHADO, E. C.; LOPES, R. M.; SILVA, E. T. Land-ocean fluxes in the paranaguá bay estuarine system southern brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 53, p. 169–181, 2005.

MARTINS, C. C. **Avaliação da introdução de esteróis fecais e hidrocarbonetos marcadores geoquímicos em sedimentos da Baía do Almirantado, Península Antártica**. Dissertação (Mestrado) — Universidade de São Paulo, 2001.

MARTINS, C. C. **Marcadores orgânicos geoquímicos em testemunhos de sedimento do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, SP: um registro histórico da introdução de hidrocarbonetos no ambiente marinho.** Tese (Doutorado) — Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MARTINS, C. C.; BÍCEGO, M. C.; MAHIQUES, M. M.; FIGUEIRA, R. C. L.; TESSLER, M. G.; MONTONE, R. C. Depositional history of sedimentary linear alkylbenzenes (LABs) in a large south american industrial coastal area (Santos estuary, southeastern Brazil). *Environmental Pollution*, v. 158, n. 11, p. 3355–3364, 2010.

MESSERSCHMIDT, I. **Análise Quantitativa por Espectroscopia no Infravermelho Médio Empregando Técnicas de Reflectância e Calibração Multivariada.** Tese (Doutorado) — IQ/Unicamp, 1999.

MEYSMAN, F. J. R.; MIDDELBURG, J. J. Acid-volatile sulfide (AVS) – a comment. *Marine Chemistry*, v. 97, n. 206, p. 3–4, 2005.

MIDDELBURG, J. J.; KLAVER, G.; NIEUWENHUIZE, J.; WIELEMAKER, A.; HAAS, W. D.; NAT, J. F. W. A. V. D. Organic matter mineralization in intertidal sediments along an estuarine gradient. *Marine Ecology Progress Series*, v. 32, p. 157–168, 1996.

MONIEN, P.; LETTMANNA, K.; MONIEN, D.; ASENDORF, S.; WO, A.; LIMA, C.; THALC, J.; SCHNETGER, B.; BRUMSACKA, H. Redox conditions and trace metal cycling in coastal sediments from the maritime Antarctic. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 141, p. 26–44, 2014.

NEUMANN, A.; WU, L.; LI, W.; BEARD, L. D.; JOHNSON, C. M.; ROSSO, K. M.; FRIEDRICH, A. J.; SCHERER, M. M. Atom exchange between aqueous Fe(II) and structural Fe in clay minerals. *Environ. Sci. Technol.*, v. 49, n. 5, p. 2786–2795, 2015.

NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J. M. Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, v. 56, p. 135–140, 1992.

NIZOLI, E. C.; LUIZ-SILVA, W. O papel dos sulfetos volatizados por acidificação no controle de potencial de biodisponibilidade de metais em sedimentos contaminados em um estuário tropical, no sudeste do Brasil. *Química Nova*, v. 32, n. 2, p. 365–372., 2009.

NOERNBERG, M. A. **Processos morfodinâmicos no Complexo Estuarino de Paranaguá - Paraná - Brasil: um estudo a partir de dados in situ e Landsat - TM**”. Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Geologia, Universidade Federal do Paraná, 2001.

OSPINA-ALVAREZ, N.; CAETANO, M.; VALE, C.; SANTOS-ECHEANDIA, R. P. Prevalence of tide-induced transport over other metal sources in a geologically enriched temperate estuarine zone (*Nwiberian Peninsula*). *Journal of Geochemical Exploration*, v. 140, p. 46–55, 2014.

OTERO, X.; MACIAS, F. Variation with depth and season in metal sulfides in salt marsh soils. *Biogeochemistry*, v. 61, p. 247–268, 2002.

PALCHIK, N. A.; MOROZ, T. N.; GRIGORIEVA, T. N.; MIROSHNICHENKO, L. V. Manganese minerals from the miassovo freshwater lake: Composition and structure. **Russian Journal of Inorganic Chemistry**, v. 59, p. 511–518, 2014.

PERILLO, G.; SYVITSKI, J. Mechanisms of sediment retention in estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 87, p. 175–176, 2010.

PISZCZ, K.; LUCZAK, J.; HUPKA, J. Mobility of shale drill cuttings constituents. **Physicochemical Problems of Mineral**, v. 2, n. 50, p. 795–810, 2014.

POLAK, J.; BARTOSZEK, M.; ZADLO, M.; KOS, A.; SULKOWSKI, W. The spectroscopic studies of humic acid extracted from sediment collected at different seasons. **Chemosphere**, v. 84, p. 1548–55, 2011.

QUINAGLIA, G. **Caracterização dos níveis basais de concentração de metais nos sedimentos do sistem estuarino da baixada Santista**. [S.l.]: 1, 2012.

READMAN, J. W.; PRESTON, M. R.; MANTOURA, R. F. C. An integrated technique to quantify sewage, oil and pah pollution in estuarine and coastal environments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 17, p. 298–308, 1986.

REIMANN, C.; CARITAT, P. **Chemical Elements in the Environment. Factsheets for the Geochemist and Environmental Scientist**. Berlin. [S.l.: s.n.], 1998.

RIEDEL, M.; COLLETT, T.; KUMARC, P.; SATHEC, A.; COOKD, A. Seismic imaging of a fractured gas hydrate system in the krishna godavari basin offshore india. **Marine and Petroleum Geology**, v. 27, p. 1476–1493, 2010.

RIEDEL, T. K.; LETTMANN, B.; SCHNETGER, M. Rates of trace metal and nutrient diagenesis in an intertidal creek bank. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 75, p. 134–147, 2011.

RIGAUD, S.; RADA KOVITCH, O.; COUTURE, R.-M.; DEFLANDRE, B.; COSSA, D.; GARNIER, C.; GARNIER, J.-M. Mobility and fluxes of trace elements and nutrients at the sediment–water interface of a lagoon under contrasting water column oxygenation conditions. **Applied Geochemistry**, v. 31, p. 35–51, 2013.

ROBERT, M. H.; DIMITRI, A. S.; DAVID, A.; DAVID, L. B.; STEPHEN, C. E.; LINDA, H.; RALPH, E. M. Clay mineral evolution. **American Mineralogist**, v. 98, p. 2007–2029, 2013.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. Substancias humicas de turfa: Estudo dos parmetros que influenciam no processo de extracao alcalina. **Quimica Nova**, v. 4, p. 23, 2000.

SAITO, R. T.; FIGUEIRA, R. C. L.; TESSLER, M. G.; CUNHA, I. I. L. Pb-210 and cs-137 geochronologies in the cananea-iguape estuary (sao paulo, brazil). **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 249, p. 257–261, 2001.

SALOMONS, W.; FORSTNER, U. **Metals in the hydrocycle**. Springer-Verlag. [S.l.: s.n.], 1984.

SANTOS-ECHEANDIA, J.; PREGO, R.; COBELO-GARCÍA, A.; MILLWARD, G. E. Porewater geochemistry in a galician ria (nw iberian peninsula): Implications for benthic fluxes of dissolved trace elements (*co, cu, ni, pb, vezn*).. **Marine Chemistry**, v. 117, n. 87, p. 77, 2009.

SCHNITZLER, D.; GRASSI, M. Aplicação de planejamento fatorial e protocolo de extração e fixação de sulfetos volatilizáveis por acidificação (sva) em amostras de sedimento. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1315–1320, 2009.

SCHROPP, S. J.; LEWIS, G. F.; WINDOM H. L. AND RYAN, J. D.; CALDER, F. D.; BURNEY, L. C. Interpretation of metal concentrations in estuarine sediments of florida using al as a reference element. **Estuaries**, v. 13, n. 3, p. 227–237, 1990.

SCHULZ, H. **Redox Measurements in Marine Sediments- Fundamentals Processes and Applications**. Berlin: Springer. [S.l.]: Springer, 2000.

SEEBERG-ELVERFELDT, J.; SCHLÜTER, M.; FESEKER, T.; KÖLLING, M. Rhizon sampling of porewaters near the sediment-water interface of aquatic systems. **Limnology and Oceanography**, v. 3, p. 361–371, 2005.

SIDDIQUE, M. A. M.; AKTAR, M. Heavy metal concentration in pore water of salt marsh along the karnafully river coast, banldesh. **Jounal of Environmental Science and Techology**, v. 5, n. 4, p. 241–248, 2012.

SIGNORINI, S. R. A study of circulation in bay of ilha grande and bay of sepetiba. bolm. **Instituto Oceanográfico, São Paulo**, v. 29, n. 1, p. 41–55, 1980.

SILVA, L. **Estruturas químicas de ácidos húmicos de sedimentos de mangue e o nível de poluicao ambiental**. [S.l.: s.n.], 2001.

SILVERIO, P. F. **Bases técnico – científicas para a derivação de valores–guias de qualidade de sedimentos para metais: experimentos de campo e laboratório**. Tese (Doutorado) — Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos., 2003.

SKOOG, D. A. **Princípios de Análise Instrumental**. [S.l.]: Analítica ,5 EDICAO, 2002.

SOUZA, J. K. C. **Avaliação de impactos ambientais causados por metais-traço em Água, sedimento e material biológico na Baía de São Marcos, São Luis**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal da Paraíba, 2009.

SPENCER, J. L.; HARVEY, G. L. Understanding system disturbance and ecosystem services in restored saltmarshes: Integrating physical and biogeochemical processes. . **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 106, p. 23–32, 2012.

STUMM, W.; MORGAN, J. **Aquatic Chemistry: An Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Waters**. [S.l.]: New York Wiley, 1981.

SUGUIO, K.; MARTIN, L.; FLEXOR, J. **Sea level fluctuations during the past 6000 years along the coast of the state of Sao Paulo, Brazil**. [S.l.]: Earth Rheology, Isostasy and Eustas., 1980.

TANG, W.; ZHANG, H.; ZHANG, W.; SHAN, B.; ZHU, X.; SONG, Z. Dynamics of heavy metals and phosphorus in the pore water of estuarine sediments following agricultural intensification in chao lake valley. **Environ Sci Pollut Res Int.**, v. 22, n. 10, p. 7948–7953, 2015.

UNEP. United nations environment programe - determinations of petroleum hydrocarbons in sediments - reference methods for marine pollution studies. **UNEP**, n. 20, p. 78, 1992.

USEPA. U.S – EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1998. SW 846 (method 3051): microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. disponível em: <http://www.caslab.com/EPA-Method-3051/>. Acessado em 02/02/2014.

USEPA. Method 3640. Gel-Permeation Clean up. CD-ROM. Revision 1. 1994.

USEPA. Method 3540. Soxlet Extration. CD-ROM. Revision 3, 1-8. 1996.

USEPA. National Recommended Water Quality Criteria. US Environmental Protection Agency - U.S – EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1998. SW 846 (method 3051): microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. disponível em: <http://www.caslab.com/EPA-Method-3051/>. Acessado em 02/10/2013. [S.l.]: Office of Water., 1999.

VENDRAME, A. Níveis de ^{137}Cs em Colunas Sedimentares da Região da Baía do Almirantado, Península Antártica. Dissertação (Mestrado) — Universidade Cruzeiro do Sul, São Paulo., 2007.

WAN, M.; SHCHUKAREV, A.; LOHMAYER, R.; PLANER-FRIEDRICH, B.; PEIFFER, S. Occurrence of surface polysulfides during the interaction between ferric (hydr)oxides and aqueous sulfide. *Environ. Sci. Technol.*, v. 48, n. 9, p. 5076–5084, 2014.

WU, Q.; TAMC, N. F. Y.; LEUNG, J. Y.; ZHOU, X. X.; FU, J.; YAOA, B.; HUANG, X.; XIA, L. Ecological risk and pollution history of heavy metals in nansha mangrove, south china. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 104, p. 143–151, 2014.

YU K. C. AND TSAI, L. J.; CHEN, S. H.; HO, S. T. Chemical binding of heavy metals in anoxic river sediments. *Wat. Res.*, v. 35, n. 17, p. 4086., 2001.

2 CAPÍTULO 2 - GEOQUÍMICA DE ELEMENTOS TRAÇO EM PLANÍCIES ENTREMARÉS DE UM SISTEMA ESTUARINO SUBTROPICAL

2.1 RESUMO

Neste estudo tentamos elucidar a dinâmica geoquímica das espécies químicas metálicas ao longo da camada de descontinuidade redox e os sinais químicos das diferentes vias diagenéticas nos sedimentos recentes ricos em matéria orgânica em três planícies entremarés circundadas por manguezais no Complexo Estuarino de Paranaguá. Para tal, foram quantificadas as concentrações de Fe, Mn, Zn, Cr, Cu, carbono e medidos in situ o pH, Eh e a temperatura, no sistema composto pelos compartimentos: i) água suprajacente (de contato), ii) água intersticial coletada com o sistema rizoma in loco e iii) fase sólida do sedimento. Para avaliar a mobilidade e a potencial toxicidade para a biota, foram determinados os sulfetos volatilizáveis por acidificação e os metais extraídos simultaneamente (AVS/SEM) e calculados os fluxos de difusão molecular na interface água sedimento com base na primeira lei de Fick.

Análises físicas (granulometria e porosidade) e espectroscópicas (DRX, XPS e DRUVIS) foram também efetuadas na fração sólida. A técnica da Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), utilizada na fração sólida, mostrou elevada sensibilidade às espécies de Fe^{+3}/Fe^{+2} e Mn^{+2} e foram detectadas correlações entre os espectros gerados e as variáveis, mineralógicas, físicas e químicas, principalmente com a concentração total de ferro e manganês extraídos. Mudanças nas características do sedimento durante as estações inverno/verão, na magnitude das vias de oxidação da matéria orgânica e, em alguns casos, alterações nos ciclos de precipitação foram observadas.

A camada de descontinuidade redox está posicionada junto à interface água-sedimento nos sedimentos entremarés, enriquecidos organicamente, evidenciando que a diagênese nestes ambientes se dá principalmente por processos sub-óxicos, associados predominantemente aos carreadores oxi-hidróxidos de Fe, especialmente em Laranjeiras, e de Mn, mais acentuadamente em Antonina e Paranaguá, embora a presença de pirita denote condições sulfídricas. Entre os metais traço investigados, o zinco apresentou elevada mobilidade e potencial biodisponibilidade.

Palavras Chave: Metais, Fluxo Difusivo, Sulfetos, EPR.

2.2 INTRODUÇÃO

Embora as planícies entremarés representem uma pequena área dos ecossistemas marinhos, elas possuem elevado valor em um contexto global e são vitais para preservar a saúde dos ecossistemas costeiros (SPENCER; HARVEY, 2012; BARBIER *et al.*, 2011), já que funcionam como depuradores naturais para os mesmos (SCHROPP *et al.*, 1990).

Regiões Estuarinas podem ser formadas por diversos ecossistemas como: gamboas, mangues, bancos de marismas, praias, costões rochosos e planícies de maré e entremarés. Todos sofrem alterações constantemente em suas propriedades físico-químicas da água e sedimento devido à hidrodinâmica do ambiente.

As espécies químicas encontradas no compartimento sedimentar são distribuídas em duas fases: a sólida, que depende das condições físico-químicas do compartimento e da associação com a matéria particulada, e a líquida (água intersticial), em que as espécies químicas encontram-se solubilizadas e/ou em equilíbrio dinâmico com a fase sólida.

A formação da parte sólida se dá a partir da deposição de detritos rochosos e/ou orgânicos de origem animal ou vegetal, podendo ser acompanhado da deposição química por dissolução, precipitação ou formação de colóides. A complexidade do ambiente e a dinâmica dos sistemas estuarinos auxiliam no transporte e distribuição dos sedimentos. A composição do sedimento marinho pode se alterar constantemente devido a condições biológicas, hidrológicas ou através da atividade antrópica. Essas influências podem alterar a estrutura e as condições dos compartimentos estuarinos como temperatura, pH, material particulado em suspensão, salinidade, oxigênio dissolvido e potencial redox (E_h), fatores que controlam os processos biogeoquímicos do local.

Outro fator importante no controle de espécies químicas no sedimento marinho é a sua estrutura geológica. Os sedimentos estuarinos geralmente possuem em sua composição uma grande quantidade de silicatos, quartzo e feldspato, os quais apresentam uma estrutura tetraédrica cujo centro é ocupado pelo silício e os vértices pelo oxigênio. Essa propriedade garante alta resistência física e baixa atividade química. Para as moléculas de feldspatos a reatividade é maior porque alguns sítios são ocupados pelo alumínio, o que causa uma deficiência de carga positiva que é contrabalanceada com interações com cátions disponíveis, principalmente sódio, potássio e cálcio.

As planícies entremarés se caracterizam pelo acúmulo de materiais autóctones e

alóctones. Elas são formadas basicamente por manguezais, marismas e bancos não vegetados. As regiões entremarés possuem assinaturas mineralógicas semelhantes, principalmente quando se faz comparações em regiões geográficas próximas. Seu sedimento é constituído em grande parte por quartzo (SiO_2), facilmente visualizado em amostras de areia e silte. A areia na maioria das vezes vem acompanhada de caulinita ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$) e illita ($((K, H_3O)(Al, Mg, Fe)_2(Si, Al)_4O_{10}[(OH)_2, H_2O])$). No material arenoso também encontramos minerais denominados acessórios, como a turmalina ($Na(Mg, Fe, Li, Mn, Al)_3Al_6(BO_3)_3Si_6$), hematita (Fe_2O_3), goethita ($FeO(OH)$), estauroлита ($(Fe, Mg)_2Al_9O_6[SiO_4]_4(O, OH)_2$), halita ($NaCl$), rutilo (TiO_2) e o zircão ($ZrSiO_4$), que é utilizado frequentemente nos processos geocronológicos.

Os minerais hematita (Fe_2O_3) e goethita ($FeO(OH)$), conhecido com oxi-hidróxidos de ferro, auxiliam como aceptores no processo de oxidação da matéria orgânica liberando Fe^{+3} , Mn^{+4} , amônia e sulfetos próximo a superfície do sedimento, onde a maioria das espécies metálicas presentes são precipitadas, principalmente através das ligações com os sulfetos reduzidos (DULNEE; SCHEINOST, 2014).

O ferro e o manganês são os principais agentes oxidantes da matéria orgânica além do oxigênio. As fontes de ferro e manganês nesses sistemas geralmente são: pirolusita (MnO_2), hausmannita (Mn_3O_4), pirita (FeS_2), goetita e os óxi-hidróxidos de ferro e manganês. A degradação de minerais como a jarosita ($K_2Fe_6(OH)_{12}(SO_4)_4$), argilominerais (silicatos de alumínio e/ou ferro e magnésio) ou ainda partículas oxidadas que chegam em suspensão por fontes externas podem influenciar nos processos oxidativos e na formação do sedimento marinho.

Esses minerais, além das mais diversas fontes de espécies químicas, sofrem alterações constantes devido às condições do ambiente que consequentemente alteram suas propriedades físico-químicas, podendo participar diretamente dos processos biogeoquímicos. Servem então como um sumidouro de espécies químicas seja nos processos de adsorção, complexação ou precipitação ou na biodisponibilização, auxiliando a remobilização de espécies do estado sólido para o dissolvido. O acompanhamento da composição química do compartimento (sedimento/água/água intersticial) e dos parâmetros (pH, atividade redox, granulometria, salinidade e temperatura) que regem as reações desse compartimento podem auxiliar na compreensão da biogeoquímica local (ROBERT *et al.*, 2013; ALI *et al.*, 2010; PISZCZ *et al.*, 2014; PALCHIK *et al.*, 2014; NEUMANN *et al.*, 2015).

Nos sedimentos recentes, os processos de decomposição e mineralização microbiana da Matéria Orgânica (MO) em carbono e nutrientes inorgânicos dissolvidos estão intimamente

associados com a dinâmica física, potencial redox e pH, os quais determinam a disponibilidade de receptores de elétrons (NO_3^- , Mn^{+4} , Fe^{+3} , SO_4^{-2} , CO_3^{-2} , N_2 , H^+) (SCHULZ, 2000), modulando a diagênese dos metais traço neste compartimento (RIEDEL *et al.*, 2011).

A partição e especiação desses metais em sedimentos e, portanto, a sua mobilidade e biodisponibilidade são alteradas basicamente por quatro mecanismos: a atuação das marés na ressuspensão dos sedimentos e mistura na coluna da água, a relação com a matéria orgânica, a complexação e a carga elétrica no meio aquoso (SOUZA, 2009).

Estes processos estão diretamente ligados à forma química do metal dissolvido na água intersticial, podendo ser de origem antrópica ou natural, que por sua vez percorre o sedimento no sentido ascendente ou descendente através dos fluxos de difusão. Ao entrar em contato com o material particulado e suas condições biogeoquímicas, as espécies dissolvidas sofrem interações que podem ocasionar precipitação, complexação, sorção, ou dessorção (SALOMONS; FORSTNER, 1984).

A distribuição entre a fase particulada e dissolvida é um dos mais importantes mecanismos no controle de transporte de poluentes em estuários, podendo ser influenciado por um elevado número de fatores, entre eles a salinidade, o pH, o equilíbrio oxidação–redução, bioturbação natural ou antrópica e a complexação por ligantes orgânicos e inorgânicos (STUMM; MORGAN, 1981).

Ademais, regiões entremarés possuem intensa atividade biológica, com taxas de produção primária microfitobêntica elevadas e, conseqüentemente, elevadas taxas de remineralização bêntica da matéria biogênica autóctone e alóctone (MIDDELBURG *et al.*, 1996; HERMAN *et al.*, 2001). Tais características se refletem em elevadas biomassas de organismos microbianos e macrobênticos (HEIP *et al.*, 1995), adaptados ao estresse físico conferido pela alta variabilidade físico-química destes ambientes, responsáveis por uma fração substancial do fluxo de energia nestes sistemas estuarinos (HERMAN *et al.*, 1999).

Devido a esses elevados teores de matéria orgânica, ocorrem transformações de espécies químicas contendo enxofre, especialmente a redução microbiana de sulfato (SO_4^{-2}), formando sulfetos em condições anaeróbicas, que estão intimamente associadas com as condições redox, as quais por sua vez, controlam a especiação de metais traço (FANG *et al.*, 2005). Este estudo investigou a dinâmica geoquímica de espécies químicas metálicas, focalizando a zona redox e os sinais químicos das diferentes vias diagenéticas nos sedimentos recentes em ambientes entremarés do Complexo Estuarino de Paranaguá.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 ÁREA DE ESTUDO

O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) está localizado na costa sul do Brasil. Ocupa uma área aproximada de 260 km^2 e seu eixo principal se estende até 50 km continente adentro no sentido Leste-Oeste (Fig.7). A estratificação salina ocorre principalmente durante marés de quadratura associadas a chuvas intensas e nos demais períodos, as águas do setor externo, localizado na região próxima à desembocadura, são bem misturadas e existe uma progressiva estratificação em direção ao interior do estuário (MARONE; JAMIYANAA, 1997). O regime de marés é semidiurno com desigualdades diurnas, em que as marés de sizígia variam de 1,7 m na desembocadura a 2,7 m no interior do estuário (MARONE *et al.*, 2005). Os sedimentos de fundo da Baía de Paranaguá são compostos por siltes finos a areias finas pobremente selecionadas.

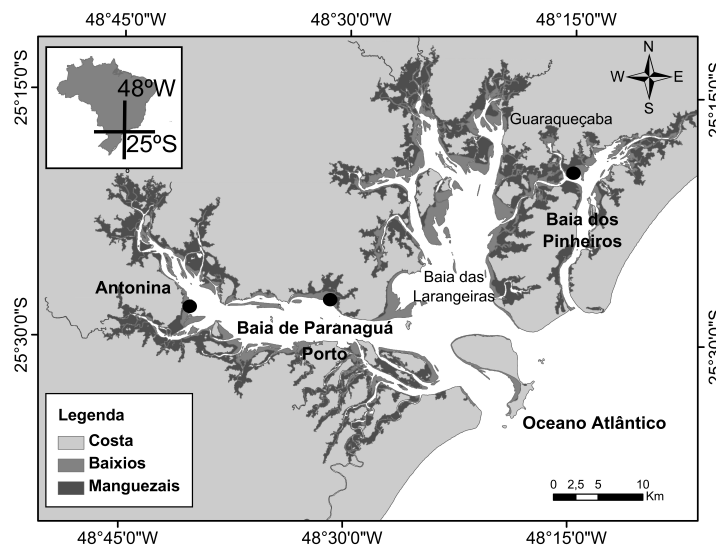


Figura 7: Complexo Estuarino de Paranaguá - Eixo Norte-Sul/Leste-Oeste.

Segundo LANA *et al.* (2000), a estrutura e o funcionamento do sistema estuarino são influenciados por diferentes gradientes. A hidrodinâmica é regida pela força da maré e descarga fluvial (MACHADO *et al.*, 1997). Devido à força de frentes frias, eventos de tempestade podem elevar o nível do mar em até 80 cm acima do nível das marés astronômicas. A temperatura média anual é de $21,1 \text{ }^\circ\text{C}$ e a precipitação média anual se situa entre 2000 mm e 2500 mm (LANA *et al.*, 2000). A estação tipicamente chuvosa começa no final da primavera e dura até o final do verão, enquanto a estação seca vai do outono até o final do inverno, mas é interrompido por um pequeno e fraco período chuvoso no início do inverno (LANA *et al.*, 2000).

As principais atividades econômicas desenvolvidas no CEP relacionam-se às atividades do Porto de Paranaguá, que movimentou cerca de 9,7 milhões de toneladas no primeiro semestre de 2014, e ao Porto de Antonina, com uma movimentação de 1 milhão de toneladas no primeiro semestre de 2014, entre eles soja, farelo, milho, sal, açúcar, fertilizante, contêineres, congelados, derivados de petróleo, álcool e veículos (<http://www.portosdoparana.pr.gov.br> - consultado em 20/03/2015).

Outro fator importante é a influência direta das cidades de Paranaguá, com cerca de 142.500 habitantes e Antonina com cerca de 19.414 habitantes (IBGE 2014). Além dessas atividades, a baía suporta atividades relacionadas à pesca artesanal, importante para boa parte da população local. Os estudos já realizados no CEP sugerem que a dinâmica dos processos biogeoquímicos é complexa, podendo ser relacionada com o regime de circulação do estuário (aporte de água doce, correntes, marés e frentes frias), processos de troca entre a baía e a plataforma continental adjacente, interação entre o sedimento e coluna da água, atividade biológica e perturbações antropogênicas (MACHADO, 2005).

2.3.2 AMOSTRAGEM

Duas campanhas de amostragem em dois meses de dois períodos, de maior e menor pluviosidade, efetuadas em regiões de planícies entremarés em três Baías com graus similares de enriquecimento orgânico (Antonina, Laranjeiras e Paranaguá), e diferentes graus de antropização e hidrodinâmica. Em dois pontos amostrais de cada área foram coletados dois testemunhos, utilizando tubos de acrílico com 30 cm de comprimento e 10 cm de diâmetro, contendo sedimento e a água de contato suprajacente.

Alíquotas de água de contato e intersticial foram coletadas com auxílio de Rizomas (SEEBERG-ELVERFELDT *et al.*, 2005), constituídos de pequenas cânulas porosas de polisulfonamida com 2, mm de diâmetro e 10 cm de comprimento, através de oríficos nos tubos nas profundidades -1, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 15 e 18 cm.

As amostras foram identificadas através da seguinte ordem: região (Antonina (A), Laranjeiras (L) e Paranaguá (P)), o número da coleta de um total de 8 para cada região (1 a 4 no período chuvoso de verão e 5 a 8 no período mais seco de inverno) e a profundidade específica. Por exemplo A14, corresponde a amostra coletada em Antonina, coleta 1 (verão) na profundidade de 4 cm.

2.3.3 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

2.3.3.1 POTENCIAL REDOX (E_H)

O potencial redox do sedimento foi determinado em campo com o auxílio de um eletrodo do tipo redox Analion Ag_2S/S^{-2} (ROX 673P-entrada BNC), combinado com um eletrodo referência de Ag/AgCl, modelo 064, conectado a um medidor de Redox Eh específico Analion modelo ROX-500. Os potenciais do eletrodo redox foram constantemente verificados através do uso de uma solução Padrão Redox (Analion) 220 – 5 mV (25°C).

2.3.3.2 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (DRX)

Os difratogramas das amostras foram obtidos utilizando-se o difratômetro Shimadzu XRD-6000 com radiação Cu-K α ($\lambda = 1,5418$), com tensão e corrente de fonte de 40 kV e 40 mA, respectivamente, com os ângulos de varredura $\frac{2}{\theta}$ de 10 a 80 graus.

2.3.3.3 GRANULOMETRIA

Para a análise, 1 g de sedimento seco de cada amostra foi tratado com 10 % de peróxido de hidrogênio e ácido clorídrico 10 %, com a finalidade de remover a matéria orgânica e carbonatos. Uma pequena alíquota do material foi injetada no módulo de dispersão do analisador. O método descrito por (FOLK; WARD, 1957) foi usado para estimar os parâmetros de sedimentos que utilizam Rysgran R pacote (GILBERT *et al.*, 2012).

2.3.3.4 CARBONO ORGÂNICO DISSOLVIDO (COD)

Foram utilizados 2 mL de amostra diluídos em 20 mL de água ultra pura e acidificado com H_2SO_4 na proporção de 0,5 % (V/V), sendo congeladas em vidro âmbar até a hora da leitura. A análise foi realizada através do método de Combustão em Alta Temperatura (High Temperature Combustion HTC) em um analisador Shimadzu TOC-5000, provido de um catalisador de alumina platinado (GUO, 1994).

2.3.3.5 SULFETOS VOLATILIZÁVEIS POR ACIDIFICAÇÃO (AVS) E METAIS EXTRAÍDOS SIMULTANEAMENTE (SEM).

A extração foi realizada de acordo com Allen *et al.* (1993) utilizando processos de otimização estudados por SCHNITZLER e GRASSI (2009). Na técnica utilizada as espécies

de enxofre são convertidas para H_2S através de um ataque ácido (HCl) durante o período de uma hora. Essa espécie de Sufeto é carregada por $N_{2(g)}$ em um ambiente inerte e fixada em uma solução alcalina antioxidante (TAA). Após a fixação a leitura das concentrações foi realizada por um sensor redox potenciométrico para íon seletivo (ANALION) AgS/S_2 e as leituras foram feitas a partir de um muttiparâmetro OAKTON modelo WP600. As curvas de calibração foram realizadas utilizando uma solução de $Na_2S.9H_2O$. Os testes de recuperação nos forneceram uma média de $89,4 \% \pm 4,8$.

A solução restante do processo de extração dos SVA foi filtrada ($0,45 \mu m$) e a análise/quantificação dos metais na solução foi realizada através de Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) Perkin Elmer-Optima 7000 DV. A calibração foi realizada com soluções estoque (Perkin Elmer).

As amostras de sedimento obtidas após a determinação dos SVA foram submetidas à digestão, seguindo o método SW-3051-A (USEPA, 1999), através do forno de micro-ondas em um processo de aquecimento gradual, partindo-se da temperatura ambiente do sedimento até $180^\circ C$ (aproximadamente 350 psi). O tempo programado da rampa de aquecimento, patamar e resfriamento foi de 1 hora para cada amostra. As soluções foram filtradas, diluídas e quantificadas. A quantificação dos metais precipitados com os SVA no sedimento foi efetada por Espectrometria de Emissão Ótica (ICP-OES -Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy) em um equipamento Perkin Elmer-Optima 7000 DV.

2.3.3.6 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)

O espectro de EPR foi registrado em espectrômetro Bruker EMX, em temperatura ambiente, operando em banda-X (aproximadamente 9,5 GHz), empregando 100 kHz de frequência e campo magnético de 5000 gauss (G). As medidas de EPR foram efetuadas em amostras sólidas pulverizadas e acondicionadas em tubos de quartzo.

2.3.3.7 ANÁLISES DOS DADOS

Devido ao grande número de amostras e à similaridade dos espectros entre as amostras e profundidades, verificados por Análise de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), foi utilizada a ferramenta quimiométrica de análise de Componentes Principais (PCA), realizada com o conjunto de amostras das três áreas do CEP estudadas (A, L, P), no período de verão e inverno (amostragens 1 a 8). Fluxos de difusão molecular dos metais dissolvidos foram calculados com base na primeira lei de Fick.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO SEDIMENTO

A Difração de raios-X mostrou picos relacionados com quartzo (areia), um mineral no estado intermediário de intemperismo, fase mineral esta comum em todas as amostras. Também foram identificados os minerais halita e gipsita. A formação de gipsita ocorre pela evaporação da água do mar, em ambiente calmo sendo o primeiro mineral a precipitar, seguido pela halita (SUGUIO *et al.*, 1980).

Outro mineral encontrado em todas as amostras foi a caulinita, um argilo-mineral que possui as espécies OH^- e O^{2-} nas bordas das suas camadas. Esta característica permite que a caulinita apresente propriedades lipofílicas e hidrofílicas, sendo importante na retenção das partículas e contaminantes.

A pirita foi detectada em todas as amostras de sedimento avaliadas, com picos mais intensos nas amostras de (A) e (P), sendo um pouco menos intenso nos testemunhos de (P) (Fig.8). Os compostos piríticos possuem uma característica especial que é a coloração típica peculiar dos sulfetos de ferro (vermelho amarelado e preto) (CAVALLO; ZORZIN, 2012). A coloração preta foi identificada visualmente distribuída de forma irregular em todos os testemunhos coletados.

A pirita encontrada pode ser atribuída à presença da MO que se acumula mais rápido do que ela é oxidada, resultando em águas intersticiais anaeróbias, devido à redução de sulfatos em sulfetos de hidrogênio pela ação bacteriana.

Nos testemunhos de P, as concentrações de hematita diminuem com o aumento da profundidade, principalmente em P7 e P8. Estas constatações são corroboradas pela técnica de EPR, através da qual se verificou a redução nos ambientes das amostragens 7 e 8 nas regiões de domínio concentrado do espectro (região de 3500 G atrelada a oxi-hidróxidos de ferro como a goethita e hematita (Fig.9). Na região de L, a redução de Fe^{+3} pode ter ocorrido a partir da goethita, uma vez que foram detectados pequenos picos deste mineral, os quais diminuem de intensidade com o aumento da profundidade (GONZALEZ *et al.*, 2011).

Parte dos sulfetos reage com minerais que contem ferro para formar sulfetos metálicos com baixa solubilidade e outra parte é oxidado por bactérias em enxofre elementar. Uma fração reage com mono-sulfeto (HS) de ferro para formar pirita (FeS_2) (GIBLIN *et al.*, 1989). Por outro lado, a detecção de enxofre como pirita em fase sólida suporta a presença de condições sulfídricas (MONIEN *et al.*, 2014).

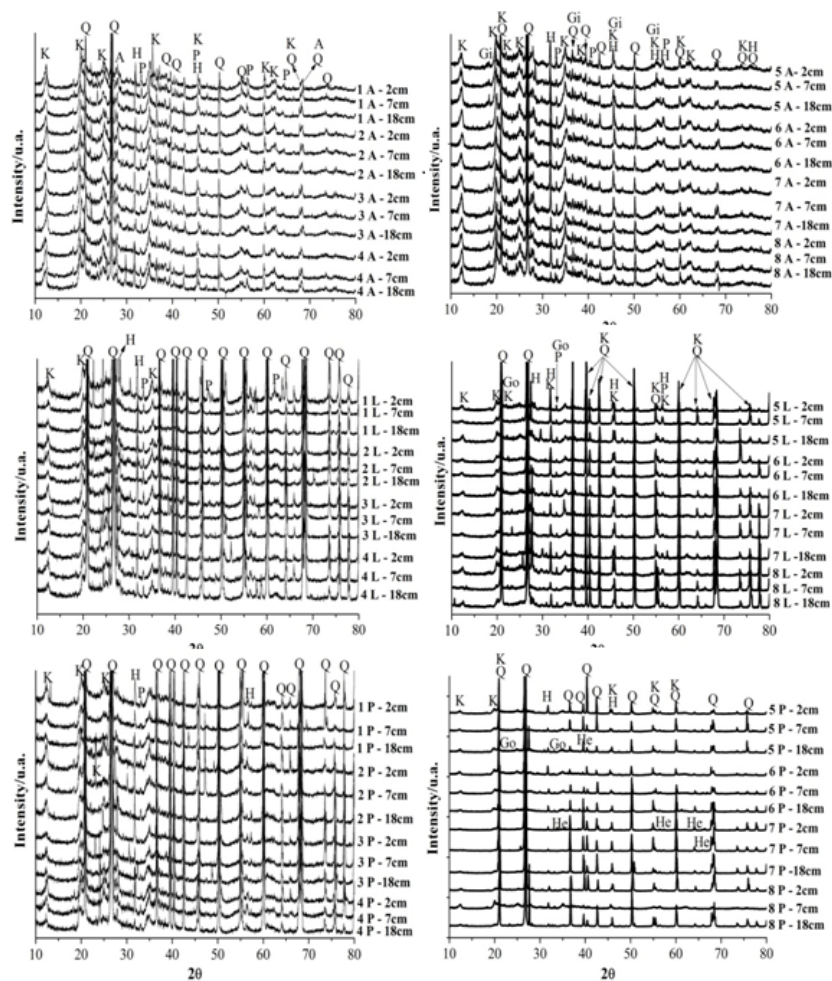


Figura 8: Difração de Raio-X (DRX) referente às profundidades 1, 7 e 18 centímetros de todas as amostras coletadas em Antonina, Laranjeiras e Paranaguá nos períodos de verão e inverno, respectivamente.

2.4.2 DISTRIBUIÇÃO DE METAIS NO SEDIMENTO E ÁGUA INTERSTICIAL

A utilização do ácido clorídrico (6 M) a frio foi utilizado para liberar os metais associados aos óxidos de Fe e Mn, além de ser eficiente na decomposição de sulfetos amorfos e matéria orgânica lábil. Para a análise dos metais no sedimento, foi utilizado o padrão MC-SS2 obtendo valores de recuperação que variaram entre 97,04 à 110,07 % (FÖRSTENER; WITTMANN, 1979; DITORO *et al.*, 1990; SANTOS-ECHEANDIA *et al.*, 2009; SCHNITZLER; GRASSI, 2009).

Para as amostras de água intersticial não foi possível trabalhar com um padrão de análise. Para garantir a confiabilidade dos resultados foi realizada uma intercalibração, onde foram encontrados erros com variação entre 1,82 à 8,43%. Os limites de detecção (LD) foram $0,1211 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Mn, $0,6903 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Fe, $0,8100 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Cr, $1,0231 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Cu e $0,3419 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Zn. Onde as médias encontradas para as amostras de água

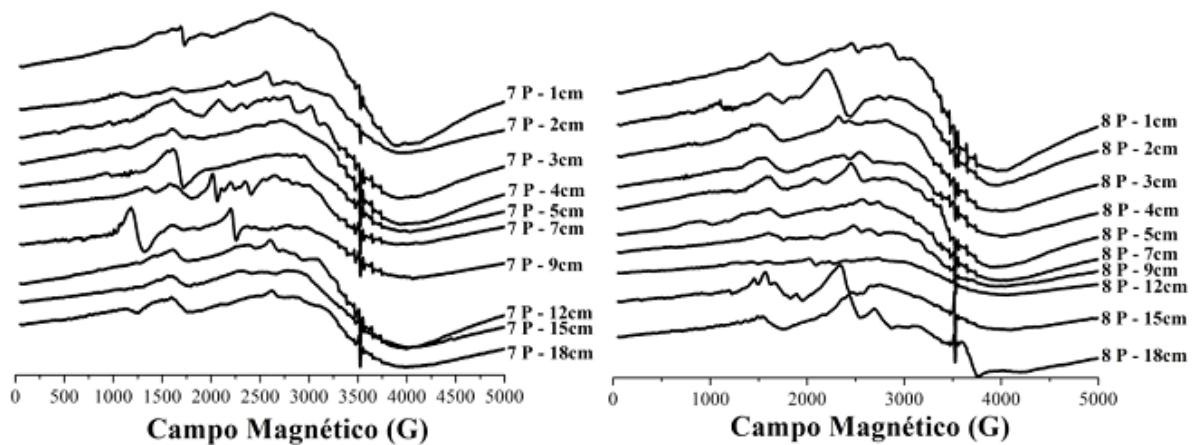


Figura 9: Espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) das Amostras de Paranaguá (P) em uma faixa de Campo Magnético de 5000 G.

intersticial foram: $6,5635 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Mn, $58,5178 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Fe, $0,0045 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Cr, $0,0365 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Cu e $0,5650 \text{ mg.L}^{-1}$ para o Zn (SIDDIQUE; AKTAR, 2012; TANG *et al.*, 2015).

O aumento das concentrações de Mn dissolvido na água intersticial principalmente próximo à superfície, nas amostras (A1, A4, A8, L1, L2, L3 e L4), sugerem a presença de uma região sub-óxica. Estas altas concentrações de Mn na subsuperfície indicam que o MnO_2 está sendo utilizado como acceptor de elétrons na ausência do oxigênio, evidenciando assim uma zona de redução de Mn (DOLLHOPF *et al.*, 2000).

A grande maioria dos testemunhos de Antonina com exceção da amostra A2 e praticamente todas as amostras coletadas em Laranjeiras (exceto L5 e L8), apresentaram um aumento da concentração de Zn na camada superficial em oposição ao COD (Fig.10), indicando que a liberação deste metal para a água intersticial está associada à degradação da matéria orgânica, nos primeiros centímetros superiores da coluna sedimentar.

Esse aumento pode ainda estar relacionado com as espécies de cobre adsorvidas em compostos minerais principalmente de oxi-hidróxidos de Ferro utilizados na degradação da MO liberando assim o Cu para a água intersticial (REIMANN; CARITAT, 1998). Essa característica também pode ser a responsável pelo aumento nas concentrações das amostras de Cu e Cr próximo à zona de redução (SANTOS-ECHEANDIA *et al.*, 2009).

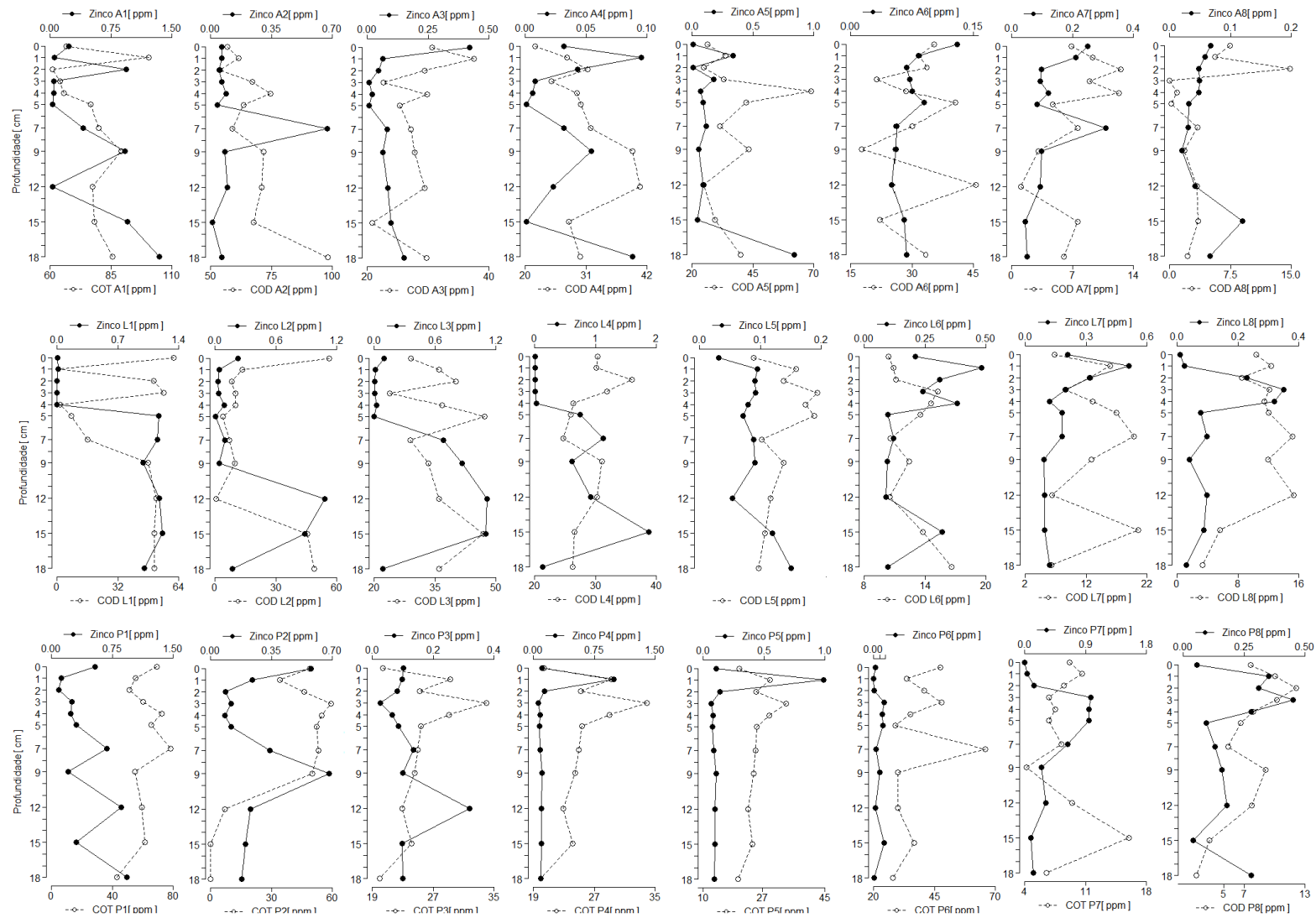


Figura 10: Distribuição vertical da concentração de Zinco ($mg.L^{-1}$) e Carbono Orgânico Dissolvido (COD) ($mg.L^{-1}$) nos sedimentos recentes coletadas no período de verão (1 a 4) e inverno (5 a 8) nas baías de Antonina (A), Laranjeiras (L) e Paranaguá (P).

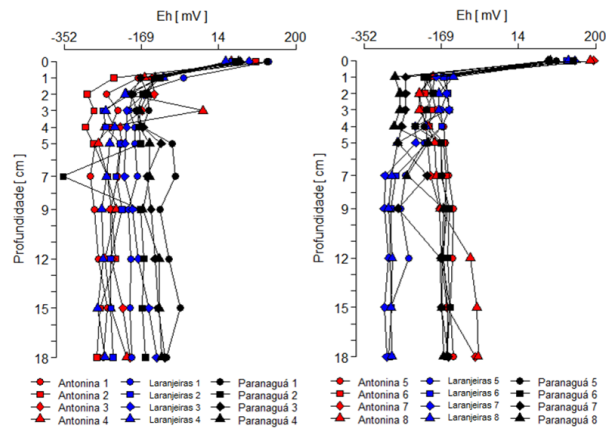


Figura 11: Perfis verticais (0-18 cm) de E_h (mV) nos sedimentos coletados no período de verão (1 a 4) e inverno (5 a 8) nas planícies entremarés das baías de Antonina (A), Laranjeiras (L) e Paranaguá (P).

Outro procedimento que auxilia na identificação da zonação redox no sedimento é a análise de correlação das concentrações de metais sensíveis redox solubilizados na água com o pH, potencial redox (E_h) e o Carbono Orgânico Dissolvido (COD).

Os perfis do potencial redox (E_h) (Fig.11) nos sedimentos entremarés investigados evidenciam a presença da camada de descontinuidade redox em até 1 ou 2 cm e, de modo geral, um incremento concomitante nas concentrações de Fe e Mn reduzidos (Fig.12), indicando a utilização das formas oxidadas como receptores de elétrons para oxidação da matéria orgânica.

Em alguns testemunhos (A1,A7,L3 e P8), teores menos elevados das formas reduzidas de Fe e Mn sugerem que a denitrificação e/ou sulfato-redução podem, nestes casos, ter sido relativamente mais importantes na diagênese recente nos ambientes entremarés (Fig.12).

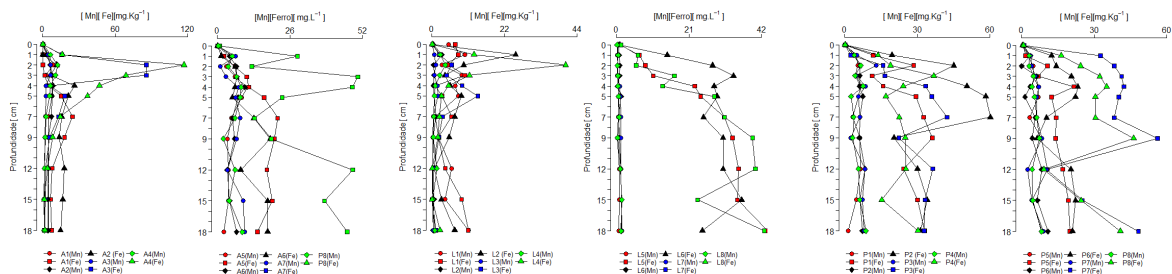


Figura 12: Perfil das concentrações de Ferro e Manganês extraídos da fase sólida após a extração dos sulfetos volatilizáveis por acidificação (AVS) em $\frac{mmol}{Kg}$ nas áreas investigadas.

2.4.3 DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DOS SULFETOS VOLATILIZÁVEIS POR ACIDIFICAÇÃO (AVS).

De um modo geral, os perfis apresentam AVS na faixa de concentrações reportada na literatura, com valores um pouco acima quando comparados com outros estuários (Tab.6), provavelmente devido à proximidade dos locais investigados com manguezais.

Tabela 6: Valores em (mmol. Kg⁻¹ de Sulfetos Volatilizáveis por Acidificação (AVS) encontrados em diversos ambientes.

Autor	Ambiente	AVS	País
Este Estudo	Estuário	5,05 - 17,64	Antonina(Brasil)
Este Estudo	Estuário	4,65 - 14,60	Laranjeiras(Brasil)
Este Estudo	Estuário	3,73 - 13,40	Paranaguá(Brasil)
Crecellius (2009)	Marinho	6,1 - 48	EUA
Machado et. al. (2008)	Manguezal	5,20 - 121	Brasil
Farias et. al. (2007)	Manguezal	0,19 - 11,56	Brasil
Alves et. al. (2007)	Estuário	1,98 - 5,08	Brasil
Guirao et. al. (2005)	Lagoa Costeira	0,50 - 2,83	Espanha
Hoop et. al. (1995)	Rio e Mar	0,10 - 52	Holanda

A maioria dos perfis mostrou um aumento das concentrações entre 4 e 9 centímetros de profundidade (Figura 8). As maiores concentrações de AVS foram observadas na região de Antonina, principalmente nas amostras mais profundas durante o período de verão (chuvoso), decorrente, provavelmente, da maior quantidade de matéria neste período, e da granulometria mais fina nesta área (CARREIRA *et al.*, 2002). Esses fatores favorecem o enriquecimento dos AVS resultando em concentrações superiores aos dos MES indicando um aprisionamento dos metais e, conseqüentemente, uma diminuição da sua biodisponibilidade (FORSTNER; SALOMONS, 1980; WAN *et al.*, 2014). Por outro lado, nas amostras A31, A32 e A33 em Antonina encontramos concentrações inferiores de AVS em relação a média observada nessa região.

Em Paranaguá, as menores concentrações de AVS foram observadas próximo à interface sedimento-água, seguidas por um aumento entre 4 e 7 cm, e uma certa estabilização em maiores profundidades, com exceção das amostras P77 e P87 que apresentaram uma diminuição nas camadas mais profundas (Fig.13). NOERNBERG (2001) detectou a presença de uma zona de máxima turbidez (ZMT) próximo à área amostral do presente estudo, associada à geometria do corpo estuarino e fatores como a estratificação da coluna da água e a intensidade de maré. Esta dinâmica pode provocar a ressuspensão do sedimento superficial, desfavorecendo a fixação dos sulfetos no sedimento (SIGNORINI, 1980; MACHADO *et al.*, 1997).

A grande maioria das amostras evidenciou uma redução na quantidade de AVS no

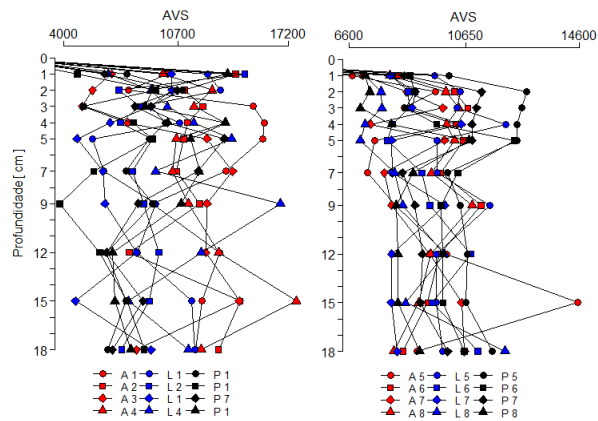


Figura 13: Perfis das concentrações de Sulfetos extraídos da fase sólida através do processo de volatilização por acidificação (AVS) dada concentração em $\frac{mmol}{Kg}$ nas áreas investigadas.

período do inverno, o que pode ser explicado pela redução da temperatura, favorecendo o aumento da solubilização do oxigênio na água, além da maior pluviosidade, fatores que dificultam a fixação das bactérias redutoras de Sulfatos (RBS) (HANSEL *et al.*, 2015). A concentração do AVS é afetada diretamente pela taxa de oxidação do sedimento, a qual promove a oxidação dos sulfetos a sulfatos.

Ademais, os sedimentos localizados em regiões entremarés podem sofrer desidratação e aeração do sedimento superficial durante a maré baixa, resultando em condições superficiais oxidantes (CLARK, 1998).

Além disso, ambientes que não possuem estrutura vegetal para oxidação do sedimento e não ficam imersos durante grandes períodos por inundação pela maré, a produção dos AVS é limitada pelo teor de matéria orgânica (MACKEY; MACKAY., 1996; JINGCHUN *et al.*, 2010).

Para a região de Laranjeiras (L), em contraste com Paranaguá, as concentrações de AVS sofreram uma diminuição nas profundidades intermediárias durante o período do verão (chuvoso). Por exemplo, o teor de AVS na amostra da água de contato L41 é muito inferior às amostras de A3. Nos dois casos, os valores de Eh também são maiores do que os demais para a mesma região, indicando um ambiente prestes a sofrer redução. Isso pode ter ocorrido devido à ressuspensão da camada superficial do sedimento através do movimento da maré ou até mesmo com o movimento no momento da coleta.

A mobilidade dos metais traço nos sedimentos pode ser verificada através da quantificação dos fluxos de difusão molecular destes elementos dos sedimentos para a água suprajacente (MAN *et al.*, 2004).

Os fluxos de difusão molecular dos metais na interface água-sedimento, apresentados

na Tabela.7, estão dentro da faixa reportada para outros sistemas estuarinos (MAN *et al.*, 2004; GAO *et al.*, 2009).

Verificou-se fluxos líquidos da água para os sedimentos para a maioria dos metais (Tab.7), indicando a remoção destes elementos pelo compartimento bêntico e, portanto, uma redução na sua mobilidade. Entretanto, houve liberação da água intersticial para a água suprajacente de Zinco dissolvido em Antonina e Paranaguá, e de cobre dissolvido em Laranjeiras. As fontes mais prováveis de zinco para os sedimentos são os aterros sanitários e emissão automotivas das cidades de Antonina e Paranaguá e as atividades agrícolas nas regiões próximas. O Cu, também é proveniente da deposição atmosférica derivada de processos de combustão de combustíveis fósseis e incineração de lixo, mas está principalmente associado aos aportes de esgotos domésticos.

O cobre é intimamente associado com a matéria orgânica, a qual pode ser oxidada na interface água-sedimento pela comunidade microbiana, liberando o Cu para a coluna da água suprajacente, como já discutido acima. O zinco, em contraste, não apresenta afinidade com a MO como o Cu, mas o incremento na sua fase dissolvida pode estar associado com a redução de oxi-hidróxidos de Fe e Mn (SANTOS-ECHEANDIA *et al.*, 2009; COSTELLO *et al.*, 2015).

Por outro lado, os fluxos de difusão apresentados na Tabela 7 podem ser considerados como estimativas aproximadas e, provavelmente, representam valores mínimos das transferências de metais traço na interface água-sedimento das zonas entremarés do CEP, já que o transporte advectivo causado pela ação da maré, a ressuspensão dos sedimentos e a bioturbação e irrigação dos sedimentos podem incrementar estes fluxos (GAO *et al.*, 2009; RIGAUD *et al.*, 2013; OSPINA-ALVAREZ *et al.*, 2014; HEIMBURGER *et al.*, 2014)

2.4.4 METAIS EXTRAÍDOS SIMULTANEAMENTE (SEM)

As concentrações dos diferentes metais, obtidas através da extração dos AVS, diferem significativamente entre si em termos de contribuição relativa. As concentrações do elemento Zinco são responsáveis por aproximadamente 51 à 76 % do montante total dos metais extraídos, enquanto que os elementos Cádmio (Cd) e Chumbo (Pb), de maior toxicidade, correspondem juntos a aproximadamente 0,02 % dos SEM. Essa maior contribuição de Zinco e também de Cobre em relação aos demais metais elevou os valores totais de SEM aumentando os valores do índice utilizado para a avaliação da qualidade do sedimento (Tab:8).

Os testemunhos coletados na região de Laranjeiras, principalmente no período de inverno (L5, L6, L7 e L8), e Antonina no período do verão (A1, A2, A3 e A4) apresentaram

Tabela 7: Fluxos de Difusão vertical predito (J_i) ($mol.m^{-2}.dia^{-1}$) na interface sedimentoágua correspondente ao gradiente entre a água de contato e a água intersticial do primeiro centímetro.

Metal	Cr (ng)	Mn (μg)	Fe(mg)	Cu (ng)	Zn(μg)
P1	24	5480	0,23	12,8	- 4290
P2	53	5760	0,79	1400	- 457
P3	-22,7	100	500	42	-0,089
P4	-3,4	-60	-0,057	-56	-12
P5	25	23	0,0084	10	1,7
P6	14	51	0,21	-126	-1,02
P7	49	67	0,7	100	0,1
P8	38	55	0,32	9,5	5,3
Metal	Cr (ng)	Mn (μg)	Fe(mg)	Cu (ng)	Zn(μg)
L1	-0,053	28	0,36	2300	0,22
L2	-131	80	0,77	22	-4,71
L3	1200	21	0,078	-122	-2,65
L4	-21,3	120	0,63	-1390	-0,21
L5	31,5	-2,44	0,17	19,6	1,7
L6		6,3	0,31	-10,1	5,1
L7		850	0,08	-7,44	4,2
L8	30	5,2	0,093	190	0,021
Metal	Cr (ng)	Mn (μg)	Fe(mg)	Cu (ng)	Zn(μg)
A1	36	2700	-0,027	240	-13,3
A2	60	0,14	0,00073	-67,1	-0,078
A3	140	0,28	1,04	160	-20,1
A4	-67,6	-4700	1,27	-143	4,2
A5	1100	200	0,094	26	11
A6	-826	190	0,055	4,1	-1,83
A7		280	1,2	-19,7	-1,48
A8	96	200	0,14	-10,6	-330

Tabela 8: Comparação entre os valores de Metais Extraídos Simultaneamente (MES) $mg.Kg^{-1}$ (Cd, Cu, Ni, Pb and Zn) encontrados em Estuários comparados com a Diretriz de Qualidade Ambiental do Canadá

SEM($mg.Kg^{-1}$)	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Este estudo	0,09-0,98	1,50-49,94	0,51-24,97	1,99-24,49	2,79-199,96
Ribeiro (2013)	0,85-7,62	0,92-18,17	1,35-49,93	0,26-48,83	13,14-612,43
Nizoli e Silva(2009)	0,05-2,63	8,90-87,79	0,35-16,73	1,66-144,21	6,34-438,11
Alves et.al.(2008)	0,2-0,6	10,5-40,0	6,6-26,7	14,9-38,5	28,1-78
Machado et.al.(2008)	0,40-1,70	0,63-51,98	5,52-24,12	21,90-85,99	464,27-915,48
Matamet (2007)	0,03-0,40	1,55-66,09	13,60-59,70	13,67-51,08	47,40-176,10
ISQG	0,70	18,70	18	3,20	124
PEL	4,20	108	36	112	271

ISQG=Interim Sediment Quality Guideline, PEL=Probable Effect Level

valores de Eh abaixo de -274 (-277 à -305 mV) em profundidades maiores que 5 cm (Fig.11), típicos de ambientes muito reduzidos. Os baixos valores de Eh concomitantes com valores de pH levemente alcalinos indicam a presença de Ferro na forma de goethita, hematita e magnetita, oxi-hidróxidos e óxidos, encontrados principalmente em frações de areia fina.

A facilidade de adsorção e a instabilidade relativa de alguns minerais facilitam os processos de transformações isomórficas na troca entre o Ferro e o alumínio, produzindo espécies mais estáveis que podem auxiliar na adsorção de espécies metálicas. Esse fato talvez explique o leve aumento da concentração de Ferro dissolvido na água intersticial nas amostras coletadas no período de inverno (mais chuvoso), nas profundidades mencionadas (Fig.12).

Concentrações de sulfato ferroso em regiões reduzidas próximo à interface indicam que o ferro reduzido está se ligando aos sulfatos (SO_4^{-2}), retardando seu processo de redução. Outras fontes prováveis desse sulfato ferroso seriam as várias fábricas de fertilizante, próximas aos locais de coleta, e o contato direto do Estuário com os desperdícios e resíduos provenientes do processo de produção e transporte do fertilizante.

Tais aportes externos de sulfato e matéria orgânica como o farelo de soja, um dos principais produtos de exportação do porto de Paranaguá, podem deixar o ambiente mais redutor através do acionamento das espécies de Fe-Mn.

Os compostos comuns de Fe e Mn encontrados no ambiente como óxidos e hidróxidos além de ótimos aceptores de elétrons são eficientes estruturas de adsorção de elementos traço no sedimento, que podem ser acompanhados de processos de precipitação provocado por sulfetos, carbonatos e oxi-hidróxidos, atuando como sumidouros no ambiente do sedimento marinho (MEYSMAN; MIDDELBURG, 2005).

Analisando a relação entre os AVS e os ΣSEM bem com os metais individualmente (Cr, Cd, Ni, Zn e Pb), não encontramos uma correlação significativa para todas as amostras que demonstrasse que os metais estão associados diretamente aos sulfetos (Tabela 4). Estudos realizados por (YU K. C.AND TSAI *et al.*, 2001) e (JINGCHUN *et al.*, 2010) mostraram que as concentrações dos SEM podem não corresponder somente aos metais ligados aos AVS, mas também a outras fases de ligação como matéria orgânica e carbonatos (SPENCER; HARVEY, 2012).

Outro fator importante é a variabilidade natural dos sedimentos em curta escala espacial. Segundo Nizoli e Luiz-Silva (2009) , a própria natureza heterogênea dos sedimentos e a sua exposição às intempéries diárias podem causar uma média de variação na ordem de 30 % .

Tabela 9: Índice de Qualidade do Sedimento ($\frac{MES-SVA}{COT}$) (USEPA,2008) mmol.Kg⁻¹.

Profund.(cm)	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
1	98,65	71,78	184,07	97,25	200,60	156,10	140,00	135,03
2	139,61	84,95	184,29	93,17	140,76	133,56	109,65	126,13
3	77,32	73,53	238,87	110,97	162,02	110,52	101,41	104,75
4	68,05	69,77	176,90	79,24	56,28	126,30	146,52	102,36
5	77,69	93,74	81,38	110,58	174,30	110,70	113,43	110,80
7	76,34	101,37	77,31	8,54	169,02	122,14	143,39	136,71
9	110,09	88,14	97,45	87,22	143,41	117,41	135,82	88,37
12	97,91	158,65	80,23	65,70	88,23	133,97	105,64	98,56
15	99,16	81,72	72,78	75,80	67,05	110,32	102,94	86,87
18	88,61	93,47	131,36	90,05	133,78	101,59	93,64	115,13
Depth (cm)	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
1	156,99	207,97	171,19	420,97	130,83	313,27	499,85	218,18
2	146,28	364,57	184,61	261,15	100,37	218,23	318,10	366,68
3	262,97	213,52	278,12	292,31	89,00	206,32	295,20	369,65
4	186,54	337,76	369,42	307,83	112,40	271,18	228,84	273,01
5	475	259,93	412,78	188,54	207,64	228,47	514,32	471,77
7	367,61	280,34	573,00	270,10	161,46	269,98	347,28	349,31
9	213,32	266,43	403,89	163,54	184,57	243,78	354,70	446,36
12	311,54	284,27	324,59	341,99	166,00	239,01	534,76	404,94
15	230,46	428,47	543,56	474,68	117,66	237,53	299,08	523,87
18	176,85	168,79	116,5	81,00	341,98	373,98	388,29	67,87
Depth (cm)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
1	288,99	699,04	434,97	104,42	226,38	153,16	747,18	520,77
2	220,63	224,34	206,15	354,30	170,80	147,71	413,26	455,26
3	359,78	520,02	410,64	609,82	250,12	179,62	738,06	528,69
4	310,69	242,30	316,76	247,50	229,13	130,28	665,07	521,49
5	301,36	294,05	455,83	254,86	196,35	168,72	449,67	685,35
7	400,75	646,53	297,96	251,69	171,90	383,70	446,70	894,73
9	304,18	795,73	422,09	306,11	277,72	253,35	558,07	776,38
12	492,74	562,95	888,79	748,27	180,82	417,99	355,04	1069,90
15	613,43	414,06	645,86	521,70	295,93	434,56	484,78	689,55
18	476,13	458,31	784,46	223,53	139,97	401,39	345,80	439,78

As melhores correlações dos SVA foram com a Matéria Orgânica do sedimento (A4, A8 e L2), principalmente a matéria orgânica dissolvida (COD). Essa relação pode ser atribuída ao processo de redução bacteriana do sulfato (RBS) (FLYNN *et al.*, 2014). A maior parte do sulfeto produzido precipita sob a forma de sulfetos de ferro, principalmente a pirita (FeS_2). Outros sulfetos menos estáveis como o Fe_3S_4 e o FeS são formados e também fazem parte da composição dos AVS, contribuindo para a somatória dos SEM (HOWARTH, 1979; BREEMEN; BUURMAN, 1998).

A matéria orgânica representada aqui pelo COD na água intersticial e COP (Fig.14), bem como os oxi-hidróxidos de Fe-Mn observados nas análises de DRX e EPR constituem fases importantes de ligação de poluentes e oligoelementos. Nossos resultados demonstram que as características químicas do sedimento e, portanto, a ciclagem e controle biogeoquímico dos metais no CEP, são regidas principalmente pela Matéria Orgânica e a composição mineralógica dos compostos de Fe-Mn.

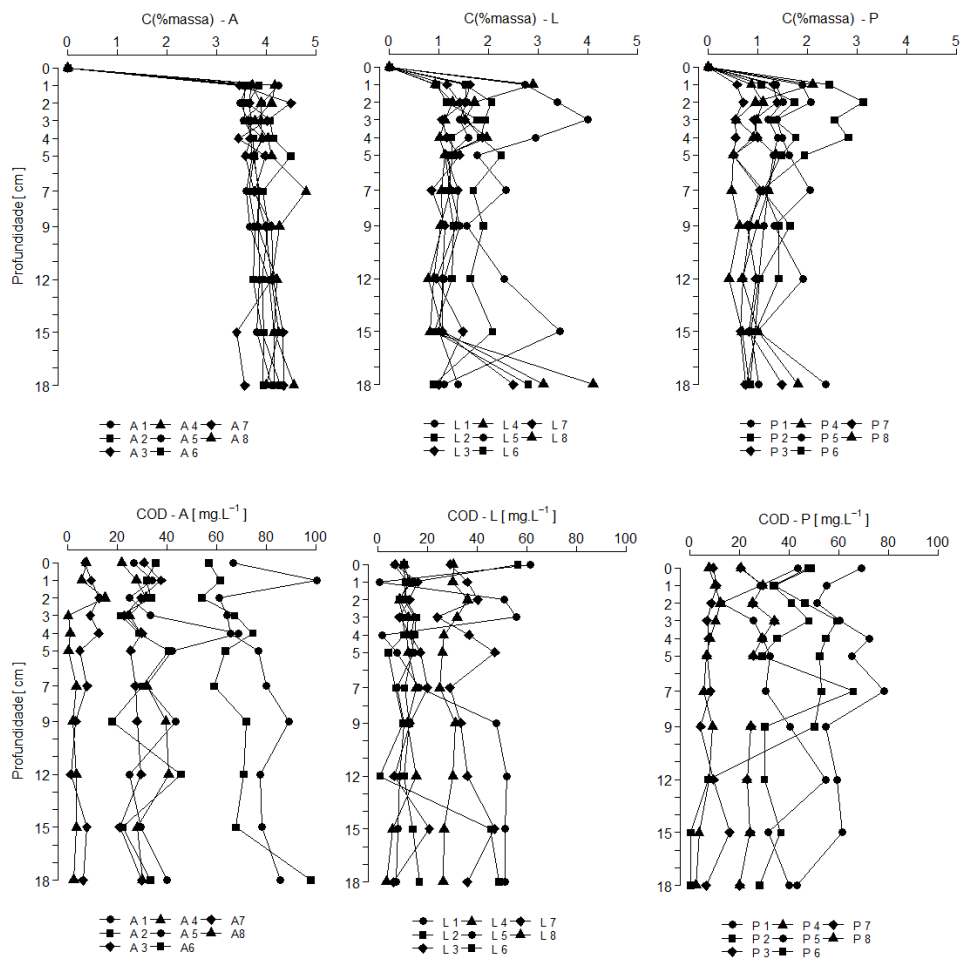


Figura 14: Distribuição vertical de Carbono Orgânico Particulado (COP) e Carbono Orgânico Dissolvido (COD).

Através dos espectros de EPR da região de Antonina observa-se que, no geral, a estação de inverno apresentou sinais mais intensos na região do Mn^{+2} . Entretanto, o sexteto de Mn^{+2} nos espectros de EPR foi detectado para a maioria das amostras de sedimentos de Antonina, com destaque para A31 e A35, que apresentaram sinais muito intensos para Mn^{+2} . Esses resultados são corroborados com os teores de Mn total do sedimento, os quais foram praticamente constantes nas estações de verão e inverno, o que também foi observado para Fe total.

Altas concentrações de Mn^{+2} observadas no sedimento podem estar interligadas ao maior fornecimento de MO alóctone, advinda do escoamento de farelo do porto, durante o qual a poeira gerada polui a baía e pode intensificar processos de oxi-redução nesse sedimento, especialmente no entorno da região portuária.

Processos mais intensos de redução durante o inverno já eram esperados, uma vez que foram observados maiores teores de carbono orgânico total (COT), clorofila e nutrientes (fósforo e nitrogênio orgânicos totais) nos sedimentos coletados neste período no CEP (MACHADO, 2005). O incremento no aporte de matéria orgânica e de nutrientes favorece a produção fitoplanctônica de MO (MACHADO, 2005), o que pode estar interligado à maior intensidade de redução, já que a inserção da MO desencadeia esse processo. Na Baía de Laranjeiras é possível observar, pelos espectros originais, que o sinal de Mn^{+2} é mais forte na época de inverno, característica essa marcante de intensificação de processos de oxidação via MnO_2 (Fig.15).

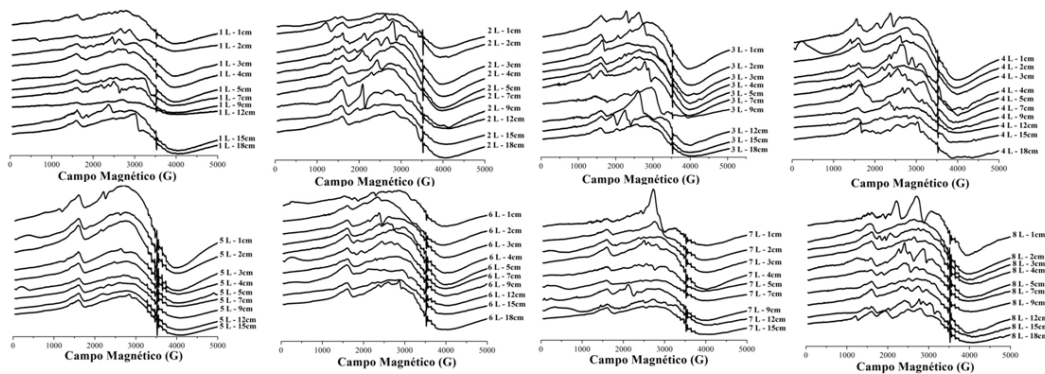


Figura 15: Espectros obtidos através da técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) das Amostras de Laranjeiras (L) em uma faixa de Campo Magnético de 5000 G.

Este efeito é corroborado pelo incremento de Mn total que passou de uma faixa de $3 - 12 \text{ mg.Kg}^{-1}$ no verão, para $11 - 31 \text{ mg.Kg}^{-1}$ (WU *et al.*, 2014), durante a estação de inverno (Fig.10).

Muito embora a Baía de Laranjeiras (L) tenha sido escolhida como ambiente controle,

Tabela 10: Concentrações de Manganês e Ferro total extraídos da fase sólida das Baías de Antonina (A), Laranjeiras (L) e Parnaguá (P), coletadas 1 to 8 samples collected at profundidades 1-18 cm (1-2-3-4-5-7-9-12-15-18 cm).

Profund.(cm)	Fe (mg.Kg ⁻¹)								Mn (mg.Kg ⁻¹)							
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
1	115	139	141	85	111	127	106	124	25	28	23	16	28	25	20	24
2	105	132	105	264	137	135	115	115	24	22	15	18	25	25	25	21
3	117	108	138	391	125	138	121	131	18	18	19	13	20	20	21	23
4	132	116	37	150	127	137	128	114	23	20	6	21	21	25	21	31
5	145	123	142	172	103	170	122	112	25	19	21	25	25	21	26	30
7	154	116	127	115	131	127	128	113	17	18	24	15	25	22	25	25
9	149	108	158	117	139	121	128	113	17	15	25	14	22	23	28	24
12	135	103	172	128	146	188	127	115	16	14	22	13	20	28	21	22
15	123	116	156	128	125	124	141	118	15	18	21	17	19	24	21	22
18	128	128	147	111	139	128	109	125	19	16	20	17	24	21	23	22
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
1	464	360	355	453	381	300	358	346	3	6	5	7	16	21	22	22
2	302	423	428	369	321	311	337	321	8	6	6	5	11	25	32	25
3	121	372	394	320	311	360	369	368	7	12	4	3	12	19	26	31
4	507	140	329	484	260	320	358	349	7	12	4	3	12	19	26	31
5	594	442	612	384	285	381	394	366	4	6	4	11	12	18	22	30
7	321	421	481	389	247	404	368	337	5	8	6	8	12	21	22	24
9	387	391	457	464	268	389	364	311	6	8	7	5	16	20	22	25
12	320	431	421	439	269	399	367	369	6	5	7	7	18	19	27	20
15	325	399	391	436	390	358	387	338	5	6	9	6	18	19	28	19
18	260	384	443	391	283	388	351	339	6	6	6	4	23	19	29	19
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
1	145	126	89	99	111	165	102	121	14	11	16	24	2	18	27	29
2	125	125	111	361	110	168	98	124	13	11	16	7	3	16	29	26
3	132	115	125	94	117	113	81	115	3	10	12	7	3	3	5	25
4	114	112	95	142	140	109	91	103	3	11	8	12	11	5	26	26
5	105	122	531	88	149	152	98	113	10	11	5	4	17	15	21	25
7	112	129	124	137	172	140	119	117	6	10	7	6	19	18	29	21
9	109	95	108	122	157	164	109	116	9	11	13	7	16	17	25	25
12	125	129	111	108	149	165	91	120	10	7	14	9	19	21	24	19
15	132	128	114	117	164	170	94	81	7	9	13	9	20	16	22	4
18	118	122	104	113	138	170	97	77	11	8	8	5	16	19	19	3

o mais próximo de um ambiente pristino dentre os três locais amostrados, os espectros de EPR indicam que esta região, ao contrário do esperado, é caracterizada por ambientes redutores, pela série de linha e picos apresentado abaixo de 3000G, que são característicos da redução do Fe⁺³ (Fig.15).

Estes dados corroboram com as altas concentrações de Fe total encontradas nos sedimentos de Laranjeiras, cerca de 3 vezes superiores a Antonina e Parnaguá (Fig.10). Dentre os fatores que controlaram as condições redox para sedimentos em regiões costeiras de baixa intervenção antrópica da Antártica (Potter Cove), verificou-se que a disponibilidade de substrato advinha principalmente de macroalgas e fitoplâncton, de acordo com a taxa ($\frac{TOC}{TN}$), carbono orgânico total e nitrogênio total, respectivamente (MONIEN *et al.*, 2014), ou seja, aportes naturais de MO, especialmente detritos de manguezais, somados à produção fitoplanctônica e fitobêntica in loco, poderiam estar desencadeando a mineralização na Baía de Laranjeiras.

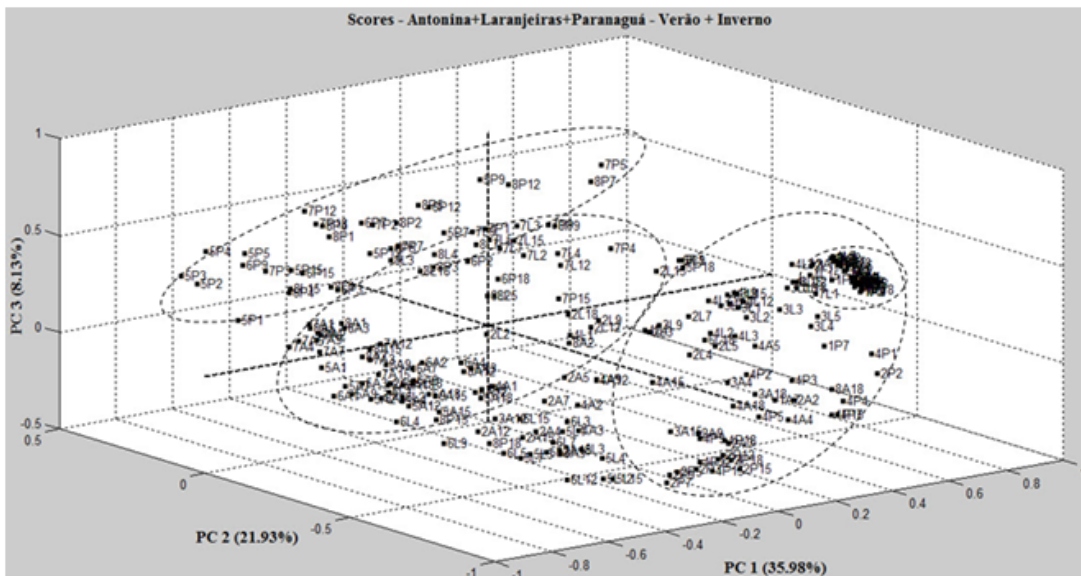


Figura 16: PCA dos espectros de EPR dos sedimentos do CEP na estação de verão e inverno. Pré-processamento: média e normalização. As amostras A112 e P21 foram consideradas “outliers” e retiradas da PCA. n=235

Na Baía de Paranaguá ocorre um incremento das zonas de redução no período de inverno (principalmente amostragens 7 e 8) (POLAK *et al.*, 2011). Este efeito pode ser observado pela intensificação do sinal de EPR na região do Mn^{+2} e é corroborado pelo aumento da concentração de Mn total no inverno, com teores de Fe total praticamente inalterados (Fig.9).

Hipotezamos que este incremento nos processos anaeróbicos de oxidação da MO tenha sua origem no aumento das atividades portuárias de exportação, principalmente de soja e farelo de soja, escoamento este que praticamente dobra nos meses de julho e agosto em relação a janeiro do mesmo ano (APPA, 2014).

Nos gráficos de PCA e loadings com todas as amostras da estação de verão e inverno (Fig.16) e (Fig.17), a PC1 observa-se um grupo bem definido no quadrante positivo (na extremidade 0,8 - 1), constituído principalmente por amostras das coletas 1 e 3 de P e A e coleta 1 de L, do período de verão. Ainda no quadrante positivo mais ao centro (entre 0-0,8) encontra-se agrupada a maioria das coletas 2 e 4 (verão) e há formação de um grupo esparsos de amostras das coletas de inverno de Paranaguá e Laranjeiras, constituído principalmente pelas coletas 7 e 8.

Já no quadrante negativo da PC1 se agrupa a maioria das amostras na estação de inverno, com exceção de algumas amostras de A (verão), constituídas principalmente pelas amostras das coletas 2, 3 e 4 em algumas profundidades (A21, A25, A27, A212, A215, A39, A312, A315, A42, A43). Essas amostras estão agrupadas com as amostragens 5 e 6 de Laranjeiras.

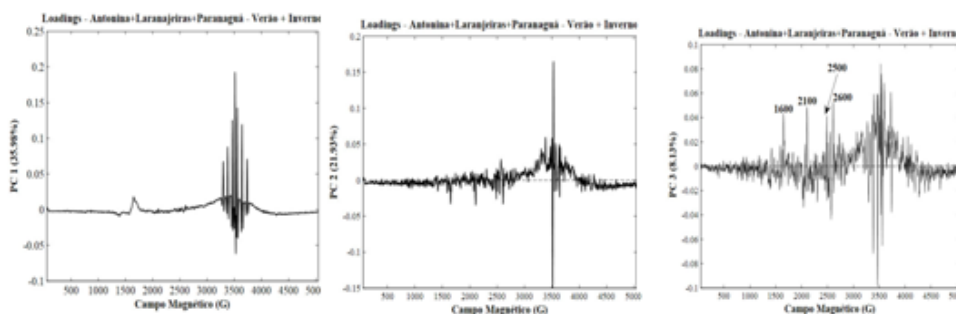


Figura 17: PCA dos espectros de EPR dos sedimentos do CEP na estação de verão e inverno. Pré-processamento: média e normalização. As amostras 1A12 e 2P1 foram consideradas “outliers” e retiradas da PCA. n=235

A componente principal 2 separa as amostras de P (inverno), das demais amostras, no quadrante positivo. Com base nos loadings desse campo positivo, PC2, observa-se que essa separação se deve à formação de linhas na região de domínio concentrado de Fe^{+3} , como discutido anteriormente para a análise de PCA, com o grupo apenas de P (inverno e verão).

De maneira geral, a PC3 segrega as amostras de verão (quadrante negativo) das amostras de inverno (quadrante positivo). A componente 3 foi capaz de realizar a segregação das amostras (total 119) das diferentes regiões do CEP. No entanto, Laranjeiras, que esteve no quadrante positivo da componente citada, foi separada das demais amostras, com formação de um pequeno grupo da coleta 1, desta área. A separação deve-se ao sinal do radical livre, em sua totalidade, onde a amostra A21 aparece como “outlier”, porém é devido ao intenso sinal do Radical Livre Orgânico (RLO), como visto no espectros originais (Fig.15). Nesse caso, conjuntura-se que a floresta de mangue da região de Laranjeiras, (Fig.7), com maior área de extensa em relação as demais áreas amostradas pode estar aportando folhas e galhos entre outros constituintes, os quais compõe-se de lignina. A degradação desses composto leva a formação de semi-quinona (sinal de ROL), presente na região de Laranjeiras.

2.5 CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que a camada de descontinuidade redox está posicionada, junto à interface água-sedimento, das zonas entremarés, enriquecidas organicamente, evidenciando que a diagênese nestes ambientes se dá principalmente por processos sub-óxicos, associados principalmente aos carreadores oxi-hidróxidos de Fe, especialmente em Laranjeiras, e de Mn, mais acentuadamente em Antonina e Paranaguá, embora sinais químicos da sulfato-redução tenham sido detectados, principalmente na Baía das Laranjeiras.

Entretanto, a magnitude das transferências dos metais dissolvidos entre a água

intersticial dos sedimentos e a água suprajacente pode ser bem mais elevada do que o transporte predito por difusão molecular, já que o movimento advectivo causado pela ressuspensão dos sedimentos superficiais por ação das marés e a bioturbação dos sedimentos finos, não considerados, são mecanismos de transporte eficientes em tais ecossistemas.

A relação $\frac{MES}{SVA}$ na fase sólida e os fluxos de difusão molecular dos metais dissolvidos da água intersticial para a água suprajacente indicam que o zinco foi o elemento com maior mobilidade potencial, especialmente em Paranaguá e Antonina, áreas mais impactadas por atividades portuárias e com maiores emissões da frota autoveicular, seguido pelo cobre.

A técnica de EPR mostrou-se uma ferramenta valiosa no estudo da zonação dos processos diagenéticos dos sedimentos entremarés do CEP.

REFERÊNCIAS

- ALI, S. A.; CLARK, W. J.; MOORE, W. R.; DRIBUS, J. R. Diagenesis and reservoir quality. **Oilfield Review**, n. 2, p. 15–27, 2010.
- ALLEN, H. E.; FU, G.; DENG, B. Analysis of acid-volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 1441–1453, 1993.
- APPA. <http://www.portosdoparana.pr.gov.br/>. **Administração Porto de Paranaguá**, 2014.
- ATKINS, P. W. **Físico Química**. [S.l.]: Físico-Química 6 edição., 1999.
- BARBIER, E. B.; HACKER, S. D.; KENNEDY, C.; KOCH, E. W.; STIER, A. C.; SILLIMAN, B. R. The value of estuarine and coastal ecosystem services. **Ecological Monographs**, v. 81, n. 2, p. 169–193, 2011.
- BECK, M.; DELLWIG, O.; SCHENETGER, B.; BRUMSACK, H. Cycling of trace metals (Mn, Fe, Mo, U, V, Cr) in deep pore waters of intertidal flat sediments. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 72, p. 2822–2840, 2008.
- BREEMEN, N.; BUURMAN, P. **Soil Formation**. [S.l.]: Kluwer: Netherlands, 376p, 1998.
- BUDZIAK, C. R. **Grupos Ácidos e Capacidade de Oxidação de Ácidos Húmicos como Método de Avaliação de Processos de Compostagem**. Dissertação (Mestrado) — UFPR, 2002.
- CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R.; READMAN, J. W.; FILEMAN, T. W.; MACKO, S. A.; VEIGA, A. Changes in the sedimentary organic carbon pool of a fertilized tropical estuary, guanabara bay, brazil: an elemental, isotopic and molecular marker approach. **Marine Chemistry**, v. 79, p. 207–227, 2002.
- CAVALLO, G.; ZORZIN, R. Geology, petrography, mineralogy, geochemistry of natural fe-based pigments from verona province (italy). In: **Proceedings of the 39th International Symposium for Archaeometry**. [S.l.: s.n.], 2012. p. 9–15.
- CHAPMAN, D. **Water Quality Assessment: A Guide to the Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring**. [S.l.]: 2 Ed., 1996.
- CHRISTENSEN, J.; HOYER, B.; KRYGER L.AND PIND, N.; KONG, L. S. Sulfides in the anaerobic environment: the determination of hydrogen sulfide and acid-soluble metallic sulfides in sea-floor sediment. **Journal of Chemical Education**, v. 75, p. 1605, 1998.
- CLARK, M. Management implications of metal transfer pathways from a refyse tip to mangrove sediments. **The Science of Total Environment**, v. 222, p. 17–34, 1998.

COSTELLO, D. M.; HAMMERSCHMIDT, C.; BURTON, G. A. Copper sediment toxicity and partitioning during oxidation in a flow-through flume. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 11, p. 6926–6933, 2015.

COUTURE, R.; WALLSCHLAGER, D.; MITCHELL, K.; VANCAPELLEN, P. Geochemical behavior of (thio)arsenates with ferro - minerals. **Mineralogical Magazine**, v. 75, p. 609 – 711, 2011.

DAUNER, A. L. L. **Caracterização molecular das fontes naturais e antrópicas da matéria orgânica sedimentar na região de Potter Cove, Ilha Rei George, Antártica**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Paraná, 2012.

DITORO, D.; MAHONEY, J.; HANSEN, D.; SCOTT, K.; HICKS, M.; MAYR, S.; REDMOND, M. Toxicity of cadmium in sediments: The role of acid volatile sulfide. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 9, p. 1487–1502, 1990.

DOLLHOPF, M.; NEALSON, K.; SIMON, D.; III, G. L. Kinetics of Fe^{+3} and Mn^{+4} reduction by the black sea strain of shewanella putrefaciens using in situ solid state voltametric Au/Hg electrodes. **Marine Chemistry**, v. 70, p. 171 – 180, 2000.

DRAGO, R. S. **Physical Methods for Chemistry**. [S.l.]: 2 th. Edition, 1992.

DULNEE, S.; SCHEINOST, A. C. Surface reaction of snii on goethite (FeOOH): Surface complexation, redox reaction, reductive dissolution, and phase transformation. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 16, p. 9341–9348, 2014.

FANG, C.; SMITH, P.; MONCRIEFF, J.; SMITH, J. U. Similar response of labile and resistant soil organic matter pools to changes in temperature,. **Nature**, v. 433, p. 57–59, 2005.

FERREIRA, A. **Caracterização Química e Espectroscópica de ácido húmicos e sedimentos retirados da Baía de Guaratuba-PR e Avaliação do nível de poluição ambiental**. Dissertação (Dissertação) — UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 2006.

FLYNN, T.; O'LOUGHLIN, E.; MISHRA, B.; DICHRISTINA, T.; KM., K. Sulfur-mediated electron shuttling during bacterial iron reduction. **Science**, 2014.

FOLK, R. L.; WARD, W. C. A study in the significance of grain size parameters. **Journal of Sediment**, v. 27, p. 3–26, 1957.

FORSTNER, U.; SALOMONS, W. Trace metal analysis of polluted sediments, part i, assessment of sources and intensities. – 505. **Environmental Technology**, v. 1, n. 11, p. 494, 1980.

FörSTENER, U.; WITTMANN, G. T. W. **Metal Pollution in the Aquatic Environment**. [S.l.: s.n.], 1979.

FUKAMACHI, C.; WYPYCH, F.; MANGRICH, A. Use of Fe^{+3} ion probe to study the stability of urea-intercalated kaolinite by electron paramagnetic resonance. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 313, n. 2, p. 537–541, 2007.

FUKUMOTO, M. M. **Determinação da história deposicional recente do Alto Estuário Santista, com base nos teores de metais e na suscetibilidade magnética dos sedimentos**. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo, 2007.

- GAO, Z.; HORTON, R.; LIU, H.; WANG, L. Influence of wave phase difference between surface soil heat flux and soil surface temperature on land surface energy balance closure. **Hydrology and Earth System sciences**, v. 6, p. 1089–1110, 2009.
- GIBLIN, A.; PETERSON, B.; FRY, B. **The controls of sulfur storage in lake sediments by interactions among the carbon, iron, oxygen and sulfur cycles**. [S.I.]: MA-USA NSF Proposal, 1989.
- GILBERT, E.; CAMARGO, M.; SANDRINI-NETO, L. **Grain size analysis, textural classifications and distribution of unconsolidated sediments**. 2012.
- GONZALEZ, N. R.; ALBA, M.; ORTA, M. Remediation of metal-contaminated soils with the addition of materials—part i: Characterization and viability studies for the selection of non-hazardous waste materials. **Chemosphere**, v. 85, p. 1511–1517, 2011.
- GUO, Y. Studies on heterosigma akashiwo (hada) hada in the dalian bight, liaoning, china. sin. haiyang-yu-huzhao. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 25, n. 2, p. 211–215, 1994.
- HANSEL, C. M.; LENTINI, C. J.; TANG, Y.; JOHNSTON, D. T.; WANKEL, S. W.; JARDINE, P. Dominance of sulfur-fueled iron oxide reduction in low-sulfate freshwater sediments. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, doi:10.1038/ismej.2015.50, 2015.
- HEIMBURGER, L.-E.; MIGON, C.; LOSNO, R.; MIQUEL, J. C.; THIBODEAU, B.; STABHOLZ, M.; DUFOUR, A.; LEBLOND, N. Vertical export flux of metals in the mediterranean sea. **Deep-Sea Research I**, v. 87, p. 14–23, 2014.
- HEIP, C. H. R.; GOOSEN, N. K.; HERMAN, P. M. J.; KROMKAMP, J.; MIDDELBURG, J. J.; SOETAERT, K. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries. **Oceanography and Marine Biology Annual Reviews**, v. 33, p. 1–150, 1995.
- HERMAN, P. M. J.; MIDDELBURG, J. J.; KOPPEL, J. V. D.; HEIP, C. H. R. Ecology of estuarine macrobenthos. **Advances in Ecology Research**, v. 29, p. 195–240, 1999.
- HERMAN, P. M. J.; MIDDELBURG, J. J. H.; R., H. C. H. Benthic community structure and sediment processes on an intertidal flat: results from the ecoflat project. **Continental Shelf Research**, v. 21, p. 2055–2071, 2001.
- HOWARTH, R. W. Pyrite. its rapid formation in a salt marsh and its importance in ecosystem metabolism. **Science**, v. 203, p. 49–51, 1979.
- JINGCHUN, L.; CHONGLING, Y.; SPENCER, K. L.; RUIFENG, Z.; HAOLIANG, L. The distribution of acid-volatile sulfide and simultaneously extracted metals in sediments from a mangrove forest and adjacent mudflat in zhangjiang estuary, china. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 1209–1216, 2010.
- JORGENSEN, B. Mineralization of organic matter in the sea bed – the role of sulfate reduction. **Nature**, v. 296, p. 643–645, 1982.
- KAPPLER, A.; BENZ, M.; SCHINK, B.; BRUNE, A. Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a freshwater sediment. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 47, p. 85–92., 2004.

KOSTKA, J.; LUTHER, G. Seasonal cycling of Fe in saltmarsh sediments. **Biogeochemistry**, p. 159–181, 1995.

LANA, P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. The subtropical estuarine complex of paranaguá bay, brasil. **Coastal Marine Ecosystems of Latin America**, v. 144, p. 131–145, 2000.

LESVEN, L.; LOURINO-CABANA, B.; BILLON, G.; RE COURT, P.; OUDDANE, B.; MIKKELSEN, O.; BOUGHRIET, A. On metal diagenesis in contaminated sediments of the deûle river (northern france). **Appl. Geochemistry**, v. 25, p. 1361–1373., 2010.

LI, G.; POLK, J. B.; MEAZELL L. A. AND HATCHETT, D. W. Ise analysis of hydrogen sulfide in cigarette smoke. **Journal of Chemical Education**, v. 77, p. 1049, 2000.

MACHADO, C. **Caracterização química do material particulado em suspensão e sedimentos superficiais na zona de máxima turbidez no eixo leste - oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), PR, BRASIL**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Paraná., 2005.

MACHADO, E. C.; DANIEL, C.; BRANDINI, N.; QUEIROZ, R. L. V. Temporal and spatial dynamics of nutrients and particulate matter in paranaguá bay, pr, brazil. **Nerítica**, v. 11, n. 1-2, p. 15–34, 1997.

MACKAY, A. P.; MACKAY, S. Spatial distribution of acid-volatile sulphide concentration and metal bioavailability in mangrove sediments from the brisbane river, australia. **Environmental Pollution**, v. 93, p. 205–209, 1996.

MAN, K.-W.; ZHENG, J.; LEUNG, A.; LAM, P.; LAM, M.-W.; YEN, Y.-F. Distribution and behavior of trace metals in the sediment and porewater of a tropical coastal wetland. **Science of the Total Environment**, v. 327, p. 295–314, 2004.

MANGRICH, A.; SILVA, L.; PEREIRA, B.; MESSERSCHMIDT, I. Proposal of an epr based method for pollution level monitoring in mangrove sediments. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 294–298, 2009.

MARIANI, D. **Reservatório Rio Grande: caracterização limnológica da Água e biodisponibilidade de metais-traco no sedimento**. Dissertação (Mestrado) — UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2006.

MARONE, E.; JAMIYANAA, D. Tidal characteristics and a numerical model for the m2 tide at the estuarine complex of the bay of paranaguá, paraná, brazil. **Nerítica**, v. 11, n. 1-2, p. 95–107, 1997.

MARONE, E.; MACHADO, E. C.; LOPES, R. M.; SILVA, E. T. Land-ocean fluxes in the paranaguá bay estuarine system southern brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 53, p. 169–181, 2005.

MARTINS, C. C. **Avaliação da introdução de esteróis fecais e hidrocarbonetos marcadores geoquímicos em sedimentos da Baía do Almirantado, Peninsula Antártica**. Dissertação (Mestrado) — Universidade de São Paulo, 2001.

MARTINS, C. C. **Marcadores orgânicos geoquímicos em testemunhos de sedimento do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente, SP: um registro histórico da introdução de hidrocarbonetos no ambiente marinho.** Tese (Doutorado) — Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MARTINS, C. C.; BÍCEGO, M. C.; MAHIQUES, M. M.; FIGUEIRA, R. C. L.; TESSLER, M. G.; MONTONE, R. C. Depositional history of sedimentary linear alkylbenzenes (LABs) in a large south american industrial coastal area (Santos estuary, southeastern Brazil). *Environmental Pollution*, v. 158, n. 11, p. 3355–3364, 2010.

MESSERSCHMIDT, I. **Análise Quantitativa por Espectroscopia no Infravermelho Médio Empregando Técnicas de Reflectância e Calibração Multivariada.** Tese (Doutorado) — IQ/Unicamp, 1999.

MEYSMAN, F. J. R.; MIDDELBURG, J. J. Acid-volatile sulfide (AVS) – a comment. *Marine Chemistry*, v. 97, n. 206, p. 3–4, 2005.

MIDDELBURG, J. J.; KLAVER, G.; NIEUWENHUIZE, J.; WIELEMAKER, A.; HAAS, W. D.; NAT, J. F. W. A. V. D. Organic matter mineralization in intertidal sediments along an estuarine gradient. *Marine Ecology Progress Series*, v. 32, p. 157–168, 1996.

MONIEN, P.; LETTMANNA, K.; MONIEN, D.; ASENDORF, S.; WO, A.; LIMA, C.; THALC, J.; SCHNETGER, B.; BRUMSACKA, H. Redox conditions and trace metal cycling in coastal sediments from the maritime antarctic. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 141, p. 26–44, 2014.

NEUMANN, A.; WU, L.; LI, W.; BEARD, L. D.; JOHNSON, C. M.; ROSSO, K. M.; FRIEDRICH, A. J.; SCHERER, M. M. Atom exchange between aqueous Fe(II) and structural Fe in clay minerals. *Environ. Sci. Technol.*, v. 49, n. 5, p. 2786–2795, 2015.

NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J. M. Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, v. 56, p. 135–140, 1992.

NIZOLI, E. C.; LUIZ-SILVA, W. O papel dos sulfetos volatizados por acidificação no controle de potencial de biodisponibilidade de metais em sedimentos contaminados em um estuário tropical, no sudeste do Brasil. *Química Nova*, v. 32, n. 2, p. 365–372., 2009.

NOERNBERG, M. A. **Processos morfodinâmicos no Complexo Estuarino de Paranaguá - Paraná - Brasil: um estudo a partir de dados in situ e Landsat - TM**”. Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Geologia, Universidade Federal do Paraná, 2001.

OSPINA-ALVAREZ, N.; CAETANO, M.; VALE, C.; SANTOS-ECHEANDIA, R. P. Prevalence of tide-induced transport over other metal sources in a geologically enriched temperate estuarine zone (*Nwiberianpeninsula*). *Journal of Geochemical Exploration*, v. 140, p. 46–55, 2014.

OTERO, X.; MACIAS, F. Variation with depth and season in metal sulfides in salt marsh soils. *Biogeochemistry*, v. 61, p. 247–268, 2002.

PALCHIK, N. A.; MOROZ, T. N.; GRIGORIEVA, T. N.; MIROSHNICHENKO, L. V. Manganese minerals from the miassovo freshwater lake: Composition and structure. **Russian Journal of Inorganic Chemistry**, v. 59, p. 511–518, 2014.

PERILLO, G.; SYVITSKI, J. Mechanisms of sediment retention in estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 87, p. 175–176, 2010.

PISZCZ, K.; LUCZAK, J.; HUPKA, J. Mobility of shale drill cuttings constituents. **Physicochemical Problems of Mineral**, v. 2, n. 50, p. 795–810, 2014.

POLAK, J.; BARTOSZEK, M.; ZADLO, M.; KOS, A.; SULKOWSKI, W. The spectroscopic studies of humic acid extracted from sediment collected at different seasons. **Chemosphere**, v. 84, p. 1548–55, 2011.

QUINAGLIA, G. **Caracterização dos níveis basais de concentração de metais nos sedimentos do sistem estuarino da baixada Santista**. [S.l.]: 1, 2012.

READMAN, J. W.; PRESTON, M. R.; MANTOURA, R. F. C. An integrated technique to quantify sewage, oil and pah pollution in estuarine and coastal environments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 17, p. 298–308, 1986.

REIMANN, C.; CARITAT, P. **Chemical Elements in the Environment. Factsheets for the Geochemist and Environmental Scientist**. Berlin. [S.l.: s.n.], 1998.

RIEDEL, M.; COLLETT, T.; KUMARC, P.; SATHEC, A.; COOKD, A. Seismic imaging of a fractured gas hydrate system in the krishna godavari basin offshore india. **Marine and Petroleum Geology**, v. 27, p. 1476–1493, 2010.

RIEDEL, T. K.; LETTMANN, B.; SCHNETGER, M. Rates of trace metal and nutrient diagenesis in an intertidal creek bank. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 75, p. 134–147, 2011.

RIGAUD, S.; RADA KOVITCH, O.; COUTURE, R.-M.; DEFLANDRE, B.; COSSA, D.; GARNIER, C.; GARNIER, J.-M. Mobility and fluxes of trace elements and nutrients at the sediment–water interface of a lagoon under contrasting water column oxygenation conditions. **Applied Geochemistry**, v. 31, p. 35–51, 2013.

ROBERT, M. H.; DIMITRI, A. S.; DAVID, A.; DAVID, L. B.; STEPHEN, C. E.; LINDA, H.; RALPH, E. M. Clay mineral evolution. **American Mineralogist**, v. 98, p. 2007–2029, 2013.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. Substancias humicas de turfa: Estudo dos parmetros que influenciam no processo de extracao alcalina. **Quimica Nova**, v. 4, p. 23, 2000.

SAITO, R. T.; FIGUEIRA, R. C. L.; TESSLER, M. G.; CUNHA, I. I. L. Pb-210 and cs-137 geochronologies in the cananea-iguape estuary (sao paulo, brazil). **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 249, p. 257–261, 2001.

SALOMONS, W.; FORSTNER, U. **Metals in the hydrocycle**. Springer-Verlag. [S.l.: s.n.], 1984.

SANTOS-ECHEANDIA, J.; PREGO, R.; COBELO-GARCÍA, A.; MILLWARD, G. E. Porewater geochemistry in a galician ria (nw iberian peninsula): Implications for benthic fluxes of dissolved trace elements (*co, cu, ni, pb, vezn*).. **Marine Chemistry**, v. 117, n. 87, p. 77, 2009.

SCHNITZLER, D.; GRASSI, M. Aplicação de planejamento fatorial e protocolo de extração e fixação de sulfetos volatilizáveis por acidificação (sva) em amostras de sedimento. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1315–1320, 2009.

SCHROPP, S. J.; LEWIS, G. F.; WINDOM H. L. AND RYAN, J. D.; CALDER, F. D.; BURNEY, L. C. Interpretation of metal concentrations in estuarine sediments of florida using al as a reference element. **Estuaries**, v. 13, n. 3, p. 227–237, 1990.

SCHULZ, H. **Redox Measurements in Marine Sediments- Fundamentals Processes and Applications**. Berlin: Springer. [S.l.]: Springer, 2000.

SEEBERG-ELVERFELDT, J.; SCHLÜTER, M.; FESEKER, T.; KÖLLING, M. Rhizon sampling of porewaters near the sediment-water interface of aquatic systems. **Limnology and Oceanography**, v. 3, p. 361–371, 2005.

SIDDIQUE, M. A. M.; AKTAR, M. Heavy metal concentration in pore water of salt marsh along the karnafully river coast, banldesh. **Jounal of Environmental Science and Techology**, v. 5, n. 4, p. 241–248, 2012.

SIGNORINI, S. R. A study of circulation in bay of ilha grande and bay of sepetiba. bolm. **Instituto Oceanográfico, São Paulo**, v. 29, n. 1, p. 41–55, 1980.

SILVA, L. **Estruturas químicas de ácidos húmicos de sedimentos de mangue e o nível de poluicao ambiental**. [S.l.: s.n.], 2001.

SILVERIO, P. F. **Bases técnico – científicas para a derivação de valores–guias de qualidade de sedimentos para metais: experimentos de campo e laboratório**. Tese (Doutorado) — Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos., 2003.

SKOOG, D. A. **Princípios de Análise Instrumental**. [S.l.]: Analítica ,5 EDICAO, 2002.

SOUZA, J. K. C. **Avaliação de impactos ambientais causados por metais-traço em Água, sedimento e material biológico na Baía de São Marcos, São Luis**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal da Paraíba, 2009.

SPENCER, J. L.; HARVEY, G. L. Understanding system disturbance and ecosystem services in restored saltmarshes: Integrating physical and biogeochemical processes. . **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 106, p. 23–32, 2012.

STUMM, W.; MORGAN, J. **Aquatic Chemistry: An Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Waters**. [S.l.]: New York Wiley, 1981.

SUGUIO, K.; MARTIN, L.; FLEXOR, J. **Sea level fluctuations during the past 6000 years along the coast of the state of Sao Paulo, Brazil**. [S.l.]: Earth Rheology, Isostasy and Eustas., 1980.

TANG, W.; ZHANG, H.; ZHANG, W.; SHAN, B.; ZHU, X.; SONG, Z. Dynamics of heavy metals and phosphorus in the pore water of estuarine sediments following agricultural intensification in chao lake valley. **Environ Sci Pollut Res Int.**, v. 22, n. 10, p. 7948–7953, 2015.

UNEP. United nations environment programe - determinations of petroleum hydrocarbons in sediments - reference methods for marine pollution studies. **UNEP**, n. 20, p. 78, 1992.

USEPA. U.S – EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1998. SW 846 (method 3051): microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. disponível em: <http://www.caslab.com/EPA-Method-3051/>. Acessado em 02/02/2014.

USEPA. Method 3640. Gel-Permeation Clean up. CD-ROM. Revision 1. 1994.

USEPA. Method 3540. Soxlet Extration. CD-ROM. Revision 3, 1-8. 1996.

USEPA. National Recommended Water Quality Criteria. US Environmental Protection Agency - U.S – EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1998. SW 846 (method 3051): microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils. disponível em: <http://www.caslab.com/EPA-Method-3051/>. Acessado em 02/10/2013. [S.l.]: Office of Water., 1999.

VENDRAME, A. Níveis de ^{137}Cs em Colunas Sedimentares da Região da Baía do Almirantado, Península Antártica. Dissertação (Mestrado) — Universidade Cruzeiro do Sul, São Paulo., 2007.

WAN, M.; SHCHUKAREV, A.; LOHMAYER, R.; PLANER-FRIEDRICH, B.; PEIFFER, S. Occurrence of surface polysulfides during the interaction between ferric (hydr)oxides and aqueous sulfide. **Environ. Sci. Technol.**, v. 48, n. 9, p. 5076–5084, 2014.

WU, Q.; TAMC, N. F. Y.; LEUNG, J. Y.; ZHOU, X. X.; FU, J.; YAOA, B.; HUANG, X.; XIA, L. Ecological risk and pollution history of heavy metals in nansha mangrove, south china. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 104, p. 143–151, 2014.

YU K. C. AND TSAI, L. J.; CHEN, S. H.; HO, S. T. Chemical binding of heavy metals in anoxic river sediments. **Wat. Res.**, v. 35, n. 17, p. 4086., 2001.

**ANEXO A – CAPÍTULO 3 - CARBON, NITROGEN AND PHOSPHORUS DYNAMICS
AT THE REDOX INTERFACE OF SUBTROPICAL ESTUARINE
INTERTIDAL MUDDLATS**

Carbon, nitrogen and phosphorus dynamics at the redox interface of subtropical estuarine intertidal mudflats

Eunice da Costa Machado*, Fernanda Martinho da Silva, Wellington Cesar Gallice, Maurício Garcia de Camargo

Center for Marine Studies, Federal University of Paraná. Av. Beira Mar s/n, Pontal do Sul, 83255-000 Pontal do Paraná, PR, Brazil

Abstract

The purpose of this study was to investigate the redox dynamics of biogenic elements in porewaters in intertidal mudflats of the subtropical Paranaguá Estuarine Complex (PEC), situated in Southern Brazil Coast. We tested the hypothesis that intertidal mudflats exposed to contrasting grades of anthropogenic impacts must exhibit different behaviors. To meet the proposed goals, we carried out two sampling campaigns in two months of two periods of higher and lower rainfall in three intertidal mudflats characterized by low or null, medium, and relatively high human impacts. At each area, we have collected sediment corers in two points and sampled porewaters using rhizons and analyzed nutrients, DOC and TC (and DIC) and the sensitive redox metals Fe and Mn. Although some spatial and temporal variability have been observed, interstitial profiles and diffusion fluxes were in the same range, refuting our initial hypothesis. However, Eh, Fe (II) and Mn (II) profiles suggest that organic matter mineralization is affected predominantly by sulphate reduction at the less impacted site contrasting with the impacted sites where Fe and Mn oxyhydroxides reduction pathways played a more important role. In addition, high concentrations of dissolved inorganic N and P in overlaying bottom water resulted in relatively low diffusion fluxes at the redox interface. Furthermore, Eh and pH profiles in the three areas showed shallow discontinuity redox layers, indicating that diffusion fluxes may be no realistic and should be considered with caution, due to a thin redox barrier in the top first millimeters of the sediment column which is not accessed by the sampling rhizon system. In this case, advection processes by inundation back may pose the major mechanism of transport of dissolved C, N, P and trace metals from sediments to the water column and, consequently, on their bioavailability for photosynthetic communities. DIC enrichment in porewater sediments and the dominance of anaerobic pathways of organic matter degradation evidenced from Eh, pH, Fe and Mn profiles, allied to net flux of DIC to the water column, suggests addition of alkalinity to the overlaying water and reduction of the potential for CO₂ uptake from atmosphere. Moreover, climate change and rising temperature interacting with the increasing eutrophication may impose a rise of the anaerobic benthic metabolism and consequently shifts on the role of these systems from sink to source of CO₂.

1. INTRODUCTION

Human activities have altered global C, N, P and hydrological, cycles, reducing the ability of aquatic ecosystems to provide valuable ecosystem services, as the fixation and store of C. For instance, the water scarcity and pollution became serious issues in many regions (Liu et al., 2012) and the effects of climate changes are already being felt in several coastal systems (Spalding et al, 2014). The increase of bioavailable N and P and atmospheric CO₂ due to anthropogenic activities has led to eutrophication and associated negative symptoms as hypoxia/anoxia events and harmful algae bloom (Bricker et al., 2003) and to likely changes on sequestration or emission of anthropogenic CO₂ in many estuarine systems (Borges, 2005).

Intertidal flats are important environments of several coastal ecosystems. These coastal features exhibit high productivity and play a main role in biogeochemical cycles (Riedel et al., 2011). They offer habitat for a great diversity of marine species and provide essential ecosystem services as protection against marine erosion and as a filter for nutrients and contaminants (Jones and Jaffe, 2013). Although intertidal flats represent a small area of marine ecosystems, they are vital for the health of coastal ecosystems in a global context (Spencer and Harvey, 2012; Barbier et al, 2011), since that act as natural filters for them (Schropp et al., 1990).

During the tidal cycle, inundation and exposure can change the concentrations of nutrients and organic matter in sediment pore water (Joye et al., 2009), due to redox variations on this time scales.

The autochthonous and allochthonous organic matter in sediments of intertidal mudflats, fueling an intense microbial metabolism, is remineralized into dissolved inorganic nutrients and carbon (DIC), mostly at the sediment-water interface, causing sharply interstitial gradients (Seidel et al., 2012; Testa et al., 2013). Therefore, the availability of electron acECPtors, like O₂, nitrate, Mn(IV), Fe(III) or sulphate in sediment porewaters provides key tools to decipher the redox biogeochemical processes in a broad gamma of coastal sediments (Froelich et al., 1979; Canfield et al., 1993; Beck et al., 2008; Monien et al., 2014). Sulphate reduction is considered the dominant pathway of anaerobic organic matter degradation in sediments characterized by a thin aerobic layer,

but in areas with Mn and Fe-rich surface sediments, metal oxide reduction may play a major role (Canfield, 1993; Monien et al., 2014).

Exchange of solutes at the sediment-water interface in marine shallow systems depends of a gamma of physicochemical and biological processes, as bioturbation by ecosystem engineers. Benthic macrofauna, for instance, modify the physical, chemical and biological environment, acting frequently as allogenic ecosystem engineers in intertidal flats (Jones et al., 1994; Passarelli et al., 2014).

In intertidal flats hydro-geochemical dynamics, grain size and organic enrichment play also a key role (Keene et al., 2014) on solute mobility and fluxes. Nutrients and trace metals dissolved in the pore water of sediments can return to the water column through processes of molecular diffusion and lateral advection and again become available for incorporation by estuarine biota. In general, fine sediments have higher porosity and hence are dominated by molecular diffusion, while in sandy sediments, advection dominated (Beck et al., 2008).

In this study, we try to elucidate the coupling between early diagenetic processes of organic matter degradation related to redoxsensitive trace metals (Mn, Fe) and nutrients (C, N and P) dynamics in porewaters from three organic rich intertidal mudflats of the Paranagua Estuarine Complex (PEC), subtropical Brazilian South coast. Our work hypothesis is that different anthropogenic pressures affect the cycling of biogenic matter in sediments and, consequently, lead to differences on the composition of porewaters.

2. STUDY AREA

The State of Paraná, southern Brazil, has a coastline marked by two estuarine systems: the north Estuarine Complex of Paranaguá (ECP), and south, the Bay of Guaratuba (Figure 1). Both systems are important to the region from the point of socio-economic and environmental perspective.

The ECP is formed by two main bodies of water that comprise the bays of Antonina and Paranaguá, (25 ° 16 'and 25 ° 34' S) and Laranjeiras and Pinheiros (48 ° 17 'and 48 ° 42' W), defined by axes east-west and north-south, respectively, with a total area of 612 km². (Lana et al., 2000) The bottom sediments are generally composed of fine silts to fine sands poorly selected (Lamour et al., 2004). The saline stratification occurs in situations of strong ebb tide, especially during heavy rains (Knoppers et al, 1987; Marone et al., 1995).

The tidal regime is semi-diurnal with diurnal inequalities, the spring tide range of 1.7 m to 2.7 m at the mouth inside the microtidal estuary (Marone and Jamiyanaa 1997).

The main economic activities undertaken relate to the activities of the Port of Paranaguá, as well as the cities of Paranaguá and Antonina. Besides these activities, the bay supports significant activity related to artisanal fisheries, important for many of the local population.

Past studies in the Paranaguá Estuarine Complex suggest that the biogeochemical dynamic is complex and may be related to the circulation regime off the estuary (freshwater inflow, currents, tides and cold fronts), exchange processes between the bay and the continental shelf, the interaction between the sediment and water column and biological activity (Machado et al., 1997; MARONE et al., 2005).

Although pristine mangrove areas are still existing, especially in the North-South axis anthropogenic stressors affect the system, mainly in the East-West axis near by the relatively large city of Paranaguá with about 116,000 inhabitants (Katsumiti et al. 2009), where domestic wastewater are discharged. Moreover, this city hosts one of the largest ports of Brazil, the Port of Paranaguá, where products of fertilizers, minerals, and petroleum are reloaded (Angeli et al., Choueri et al. 2009; Sá et al. 2006, Liebezeit et al., 2011). However, Antonina Bay is, in a minor grade, exposed to harbor activities, landfill and higher fluvial inputs.

On the other hand, there are large areas of the coastal zone protected by environmental legislation, specially the vast mangrove belts bordering the estuary, which serve as nursery and feeding grounds for a variety of fish and shellfish species, as well as for the extended rainforest zone in the hinterland (Mizekowski et al., 2012).

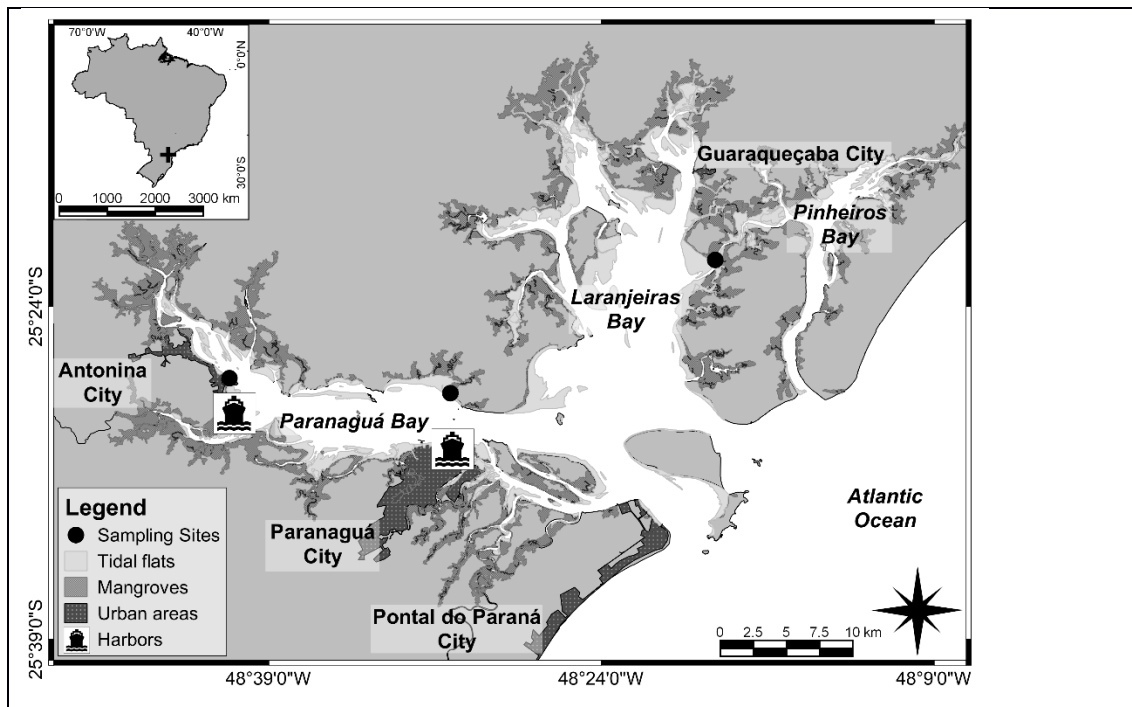


Figure 1. Map of the Paranaguá Estuarine Complex showing the sampling sites.

3. METHODS AND ANALYTICAL PROCEDURES

3.1 Sampling

To meet the proposed goals, two sampling campaigns in two months of two periods of higher and lower rainfall were performed in the years 2013 and 2014 in three areas of the PEC. The selected areas were intertidal mudflats, organic rich, subject to different anthropogenic pressures: Antonina Bay and Paranaguá Bay located in the inner and middle sectors, respectively, of the East-West axis impacted by sewage, agriculture and port activities and Laranjeiras Bay located in the North-South axis, surrounded by almost non-impacted mangroves (Figure 1).

Two sediment cores 30 cm long and 10 cm in diameter, containing sediment and overlying contact water were collected at three points in each selected

area. The first was used for the sampling of interstitial water and measurement of Eh, pH and temperature of the sediment, and to determine the porosity used in the diffusion coefficient. The second was sliced in laboratory and used for solid phase analysis.

3.2. Porewaters Sampling and In situ Measurements

The interstitial water was collected from the cores by ultrapure water washed rhizons (0.1 μm pore size) inserted simultaneously into the core tube through pre-drilled holes, covered by adhesive tape in the acrylic tube (Seeberg-Elverfeldt, 2005). Rhizon system, consisting of small porous polymeric tubes (polysulfone) 2.5 mm in diameter and 10 cm were connected to polyethylene syringes. In the system, a filtering section is fully inserted in the sediment, and the fluid passing through the pores is collected in the syringe which vacuum is produced, storing the interstitial water without exposure to oxygen (Beck, 2008). Immediately after sampling, the syringes were cleaned and stored in vacuum unopened refrigerated containers until arrival in the laboratory.

The redox potential of the sediment was determined in situ with the aid of a redox electrode type Analion Ag₂S / S₂ (ROX 673P-BNC), combined with a reference electrode of Ag / AgCl, model 064, connected to a Eh-meter Analion ROX-500. The redox potential of the electrode were constantly checked by using a standard redox solution (Analion) 220 ± 5 mV (25 ° C).

The pH and temperature were determined in the field in the removal of the sediment core with an electrode connected to a HI1292D Hanna HI 99121 reader calibrated with standard solutions of pH 4 and 7.

3.3 Analytical procedures

For DOC and TC (DOC + DIC) analyzes, aliquots of 2 mL of interstitial water were diluted with suprapure water (2:22 - V/V) in an amber glass (30 mL) with Milli-Q water, acidified by adding 50 μL of H₂SO₄ (0.5%) and frozen until half an hour before analysis. Analyzes were performed by high temperature combustion (HTC on a Shimadzu TOC-5000 analyzer, equipped with a platinum alumina catalyst (GUO et al., 2007).

Aliquots of 3 mL of interstitial water were diluted with suprapure water (3:80 – V/V) and nutrients, NH_4^+ , NO_x^- ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) and PO_4^{3-} , were analyzed by conventional spectrophotometric methods described by Grasshoff et al. (1983). Analyzes of Mn and Fe in porewater samples were performed using 1 mL aliquots diluted with Milli-Q water (1:6 – V/V) and acidified with 300 μL of HNO_3 (65%, suprapure MERCK) by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES PerkinElmer – Optima 7000DV) using spiked standards for calibration.

3.4. Diffusion Fluxes at the sediment-water interface

Diffusive fluxes of DOC and nutrients between the sediment and the overlying water were determined under the assumption that the diffusive fluxes are driven primarily by interstitial gradients of the concentrations of these elements.

To determine benthic fluxes of the constituents dissolved in porewater, Fick's first law (equation 1):

$$F_i = \Phi D'_s (\Delta C_i / \Delta z) \quad (1)$$

Where: F_i is the flux of constituent i ($\text{mmol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), Φ is the porosity of sediments, D'_s is the effective diffusion coefficient for i ($\text{m}^2 \text{ day}^{-1}$), C_i is the concentration of i (mmol m^{-3}), z represents the distance between the overlying water and the layer of the C_i concentration (m).

Porosity (Φ) and diffusion coefficient of the solute i in sediments (D_s) were calculated after Boudreau (1997), by equations 2 and 3, respectively:

$$\Phi = (m_w - m_d) / (V \cdot \rho_w) \quad (2)$$

Where: Φ is the porosity, m_w is the wet weight (g), m_d is the dry weight (g) and ρ_w is the density of the porewater.

$$D_s = D_i / \Theta^2 \quad (3)$$

Where: D_s is the diffusion coefficient of the constituent i in the sediment ($\text{m}^2 \text{ d}^{-1}$), D_i is the diffusion coefficient of i in the seawater ($\text{m}^2 \text{ d}^{-1}$), and Θ is the tortuosity of the sediment.

The tortuosity of the sediment is estimated, using the porosity calculated (equation 2), according Boudreau (1997) by the equation 5:

$$\Theta^2 = 1 - \ln(\Phi^2) \quad (5)$$

The effective diffusion coefficients of solutes in bioturbated sediments, $D's$ and the biodiffusional coefficient were calculated according Tromp et al. (1995) by equation 6 and 7:

$$D's = D_s + D_{bio} \quad (6)$$

$$\text{Log } D_{bio} = 1.63 - 0.85 \log \omega$$

Where: D_s ($\text{m}^2\text{day}^{-1}$) is the diffusion of the solute in the sediment, D_{bio} is the biodiffusional coefficient ($\text{m}^2 \text{day}^{-1}$) and ω is the sedimentation rate (m day^{-1}), gently provided by Sá, of 0,65 and 0,2 m yr^{-1} , for Antonina and Paranaguá sites, respectively (unpublished data).

3.5. Data analysis

For each variable, analysis of variance was applied to test for differences in the concentrations among the levels of the considered factors. The linear model for the ANOVA design consisted of three factors: Period (two levels – Dry and Rainy; fixed and orthogonal), Site (three levels – Antonina, Laranjeiras and Paranaguá; fixed and orthogonal) and Month (two levels, random and nested within the interaction Period X Site). ANOVA's F-ratios were calculated using Underwood (1997) methodology through the R package GAD (Sandrini-Neto & Camargo, 2013).

4. RESULTS AND DISCUSSION

4.1. Redox Discontinuity Layer (RDL) and diagenetic reactions in mudflats

Sharp shallow gradients of Eh and pH were a common characteristic of almost all the mudflats sites (Figures 2 and 3). Naturally, this is expected because organic matter deposition and sedimentation rates are high in these environments. Sedimentary organic matter oscillated between 2.5 % in the down core depths at the Paranaguá site and 25 % at Antonina top core depths.

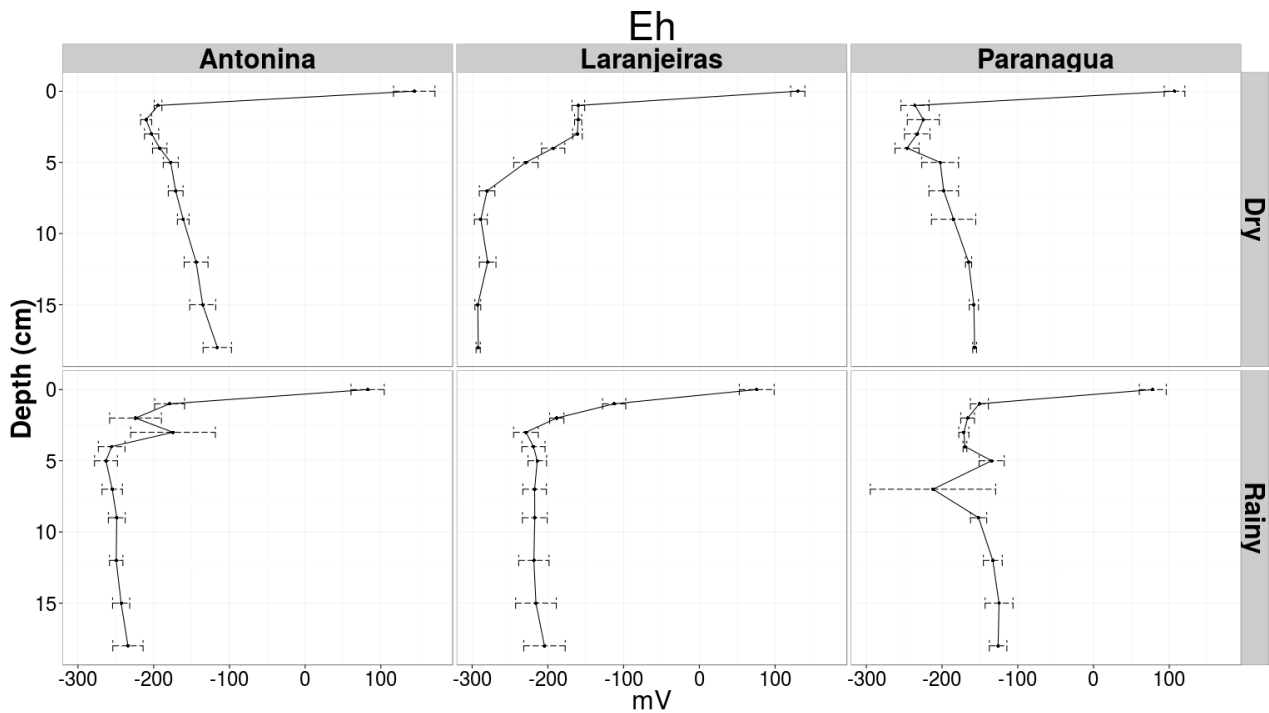


Figure 2. Eh profiles in sediments from the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

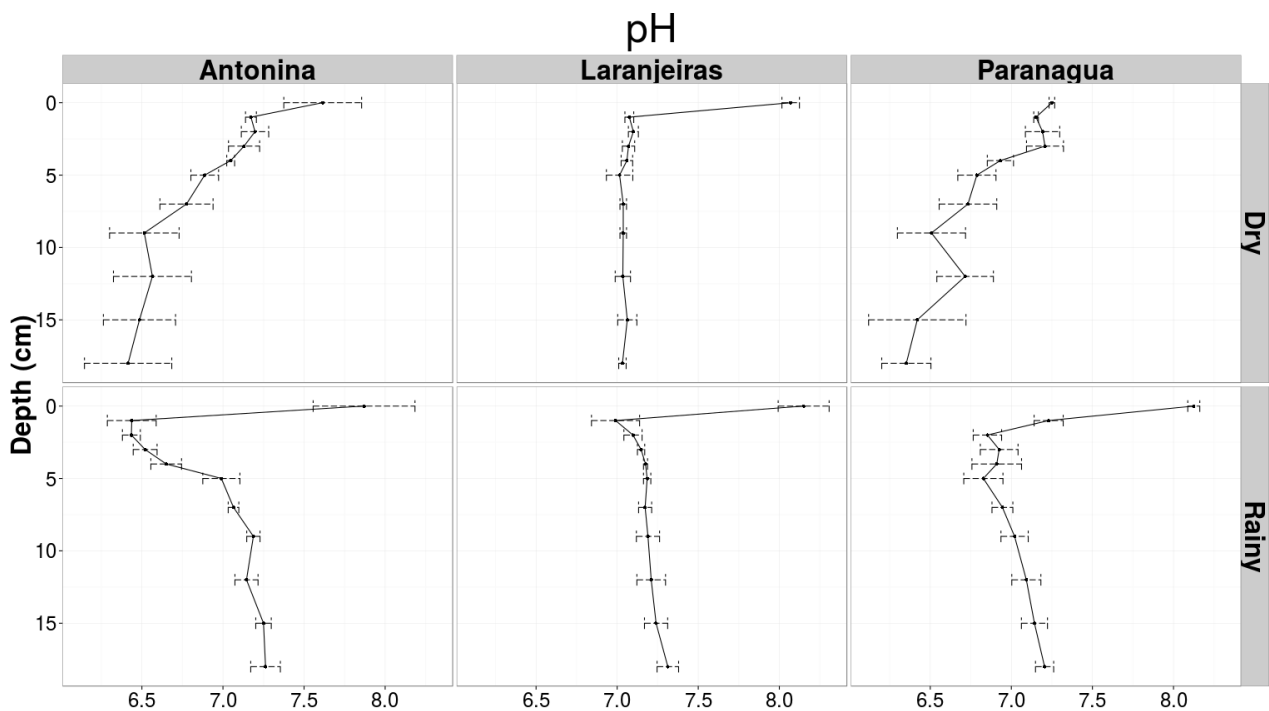


Figure 3. pH profiles in sediments from the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

The Eh and pH profiles reveal that organic matter oxidation in mudflats sediments of the PEC is performed mainly by suboxic and anoxic diagenetic pathways. However, the dissolved Fe and Mn profiles indicate that different electron acceptors have been available supporting a spatiotemporal variability on diagenetic processes (Figures 4 and 5).

Fe profiles suggest that reduction of Fe-oxi-hydroxide was more active at Antonina and Paranaguá sites, markedly in Antonina during the rainy period of summer.

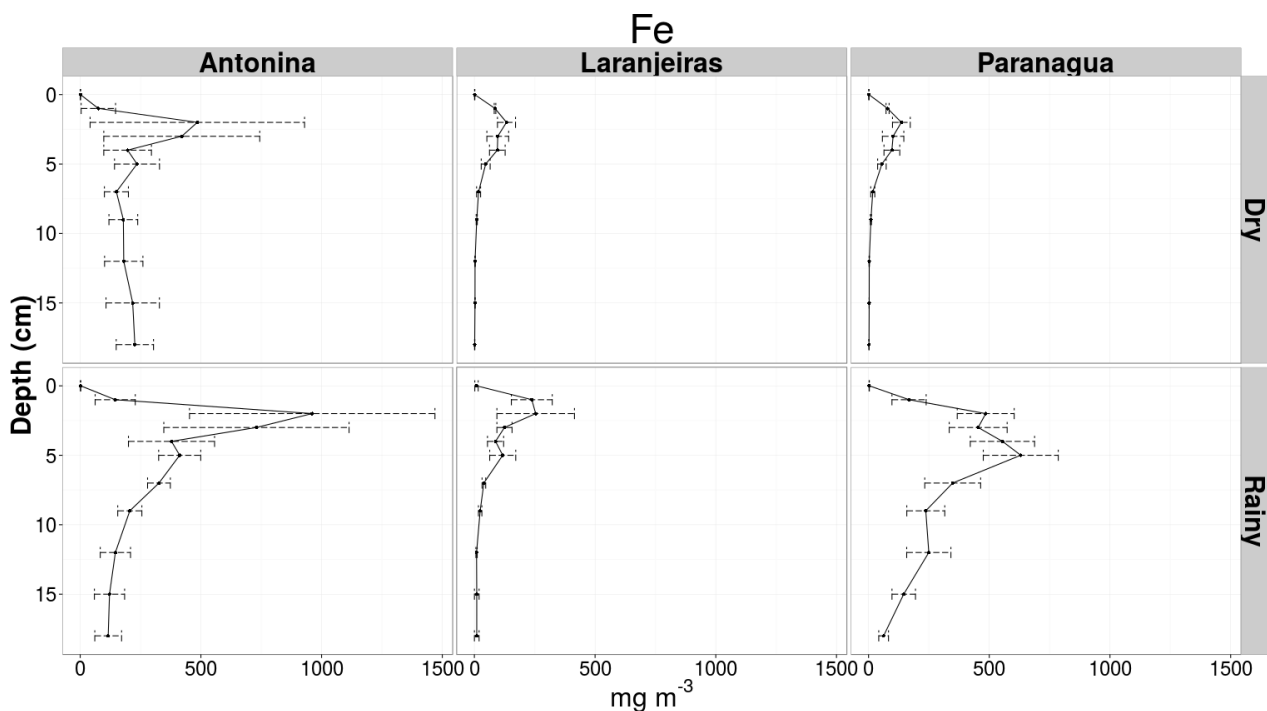


Figure 4. Profiles of Fe concentrations (mg/L) in interstitial water in the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

Reduction of MnO_2 oxides may also be inferred from Mn profiles at Antonina and Paranaguá sites. In mudflat sediments at the Laranjeiras site, in contrast, both processes appear to play a minor role. Nevertheless, the strong odour of H_2S during sample collection in summer supports the hypothesis that sulphate reduction may have been an important pathway of organic matter oxidation at this site (Chaillou et al., 2010).

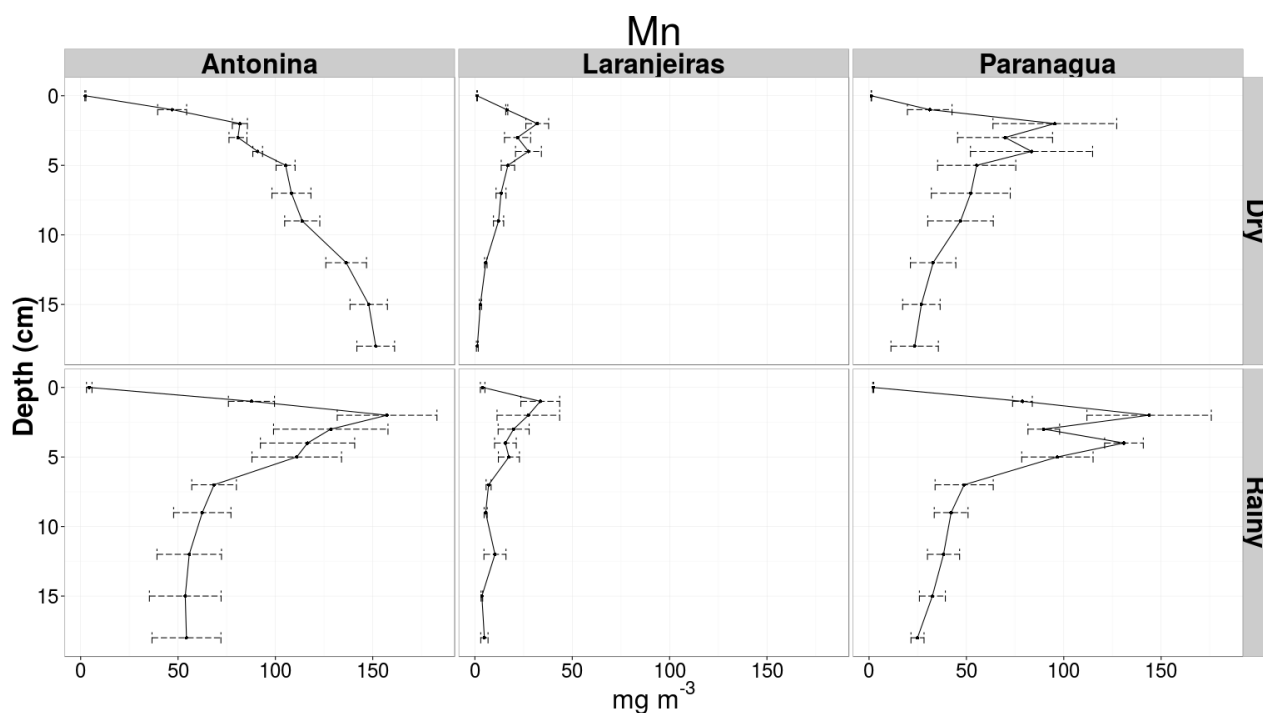


Figure 5 Profiles of Mn concentrations (mg/L) in interstitial water in the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

4.2. C, N and P dynamics in porewaters of interstitial water in intertidal flats

Interstitial profiles of ammonium exhibited spatiotemporal variability and no relation to the impact grade of each mudflat site (Figure 6). Strong enrichment, reaching values up to 600 mmol m^{-3} , were observed at Antonina Bay during summer, concomitantly with increased Mn concentrations.

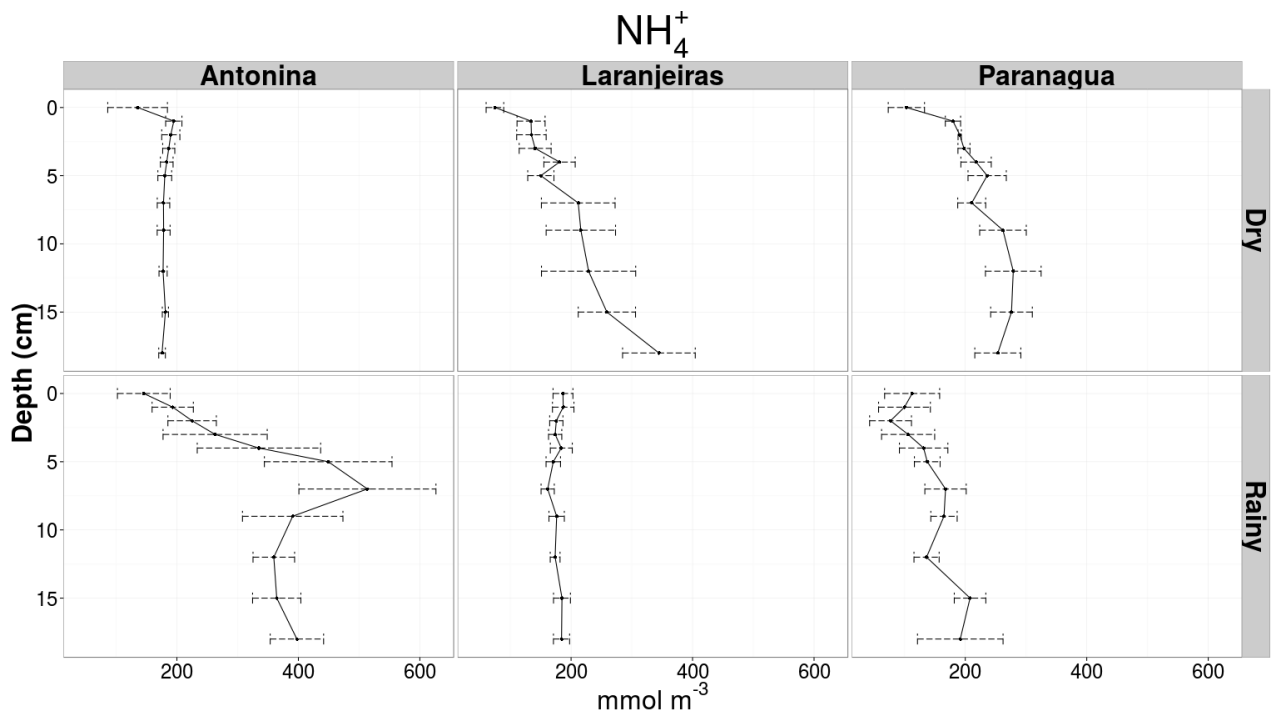


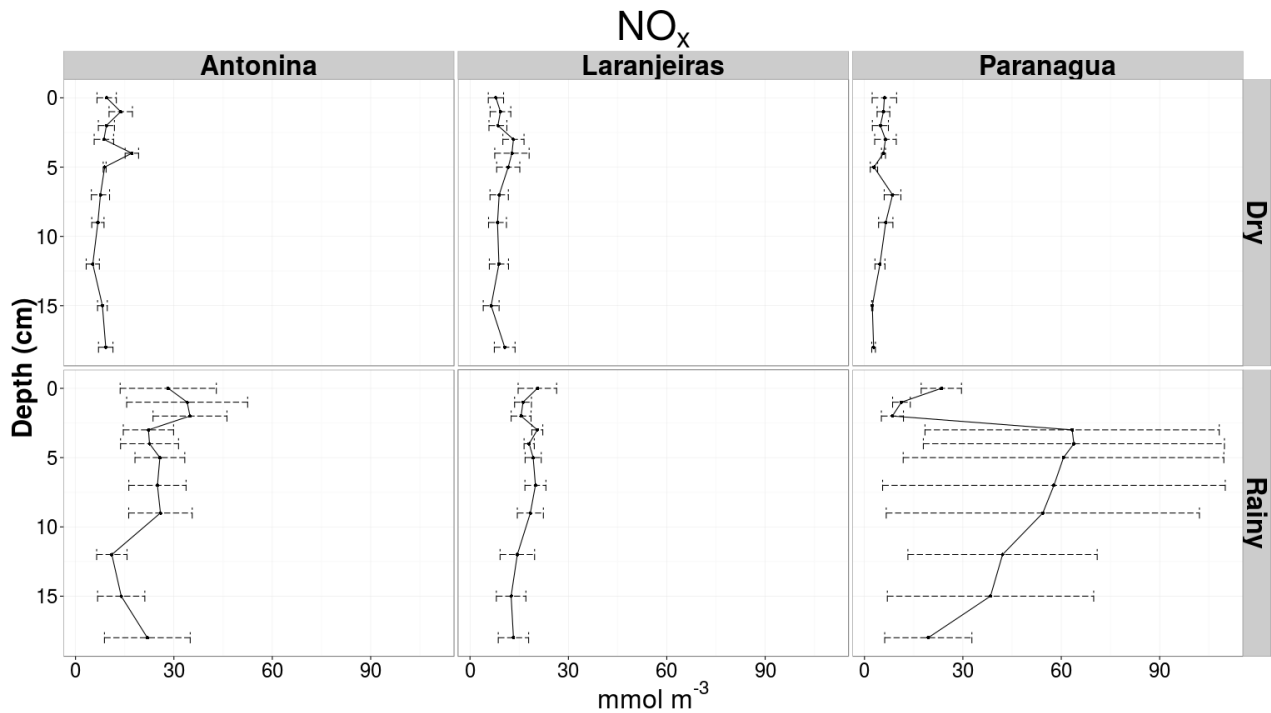
Figure 6. Profiles of ammonium concentrations (mmol m^{-3}) in interstitial water in the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

The profiles from the first month of the rainy period show peaks at 7cm depth followed by a marked reduction, suggesting the removal of ammonium down the cores. Removal of NH_4 in anoxic conditions, as in the investigated mudflats, may be derived from chemical oxidation by MnO_2 , anaerobic ammonium oxidation (anammox) and/or oxygen-limited autotrophic nitrification and denitrification reactions (Kuypers et al., 2003, Dalsgaard et al., 2003; 2005; Zhang et al., 2013). However, the concomitant increase of Mn suggests that the first mechanism is probably the chief responsible for the decrease of ammonium at the Antonina site.

Concentrations of NO_x ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) in porewaters were essentially low in dry period, suggesting that denitrification was not an effective process in winter (Figure 7). In contrast, rainy profiles indicate that this pathway may have been more utilized in summer. High rainfall rates in summer are frequent, increasing

fluvial inputs of nitrate (Machado et al., 1995) and, therefore, its availability for denitrification or reduction to ammonium.

Figure 7. Profiles of NO_x concentrations (mmol m⁻³) in interstitial water in



the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

The profiles of inorganic dissolved phosphorus exhibited no defined spatial and temporal pattern (Figure 8). The phosphorus cycling in sediments is essentially related to redox conditions and to formation and reductive dissolution of Fe-oxyhydroxides, due to their role in binding and releasing P (Canfield et al., 1993; Mort et al., 2010). Moreover, P may be stores and Mn and Al minerals (Leote et al., 2014). The high concentrations at Antonina site in summer concomitantly with the enrichment of dissolved Fe corroborate the reduction of Fe minerals as an important pathway of organic matter oxidation. However, high phosphate adsorption capacity of fine sediments should play a key role in controlling the phosphate concentration of the pore water in intertidal mudflats (Meng et al., 2014).

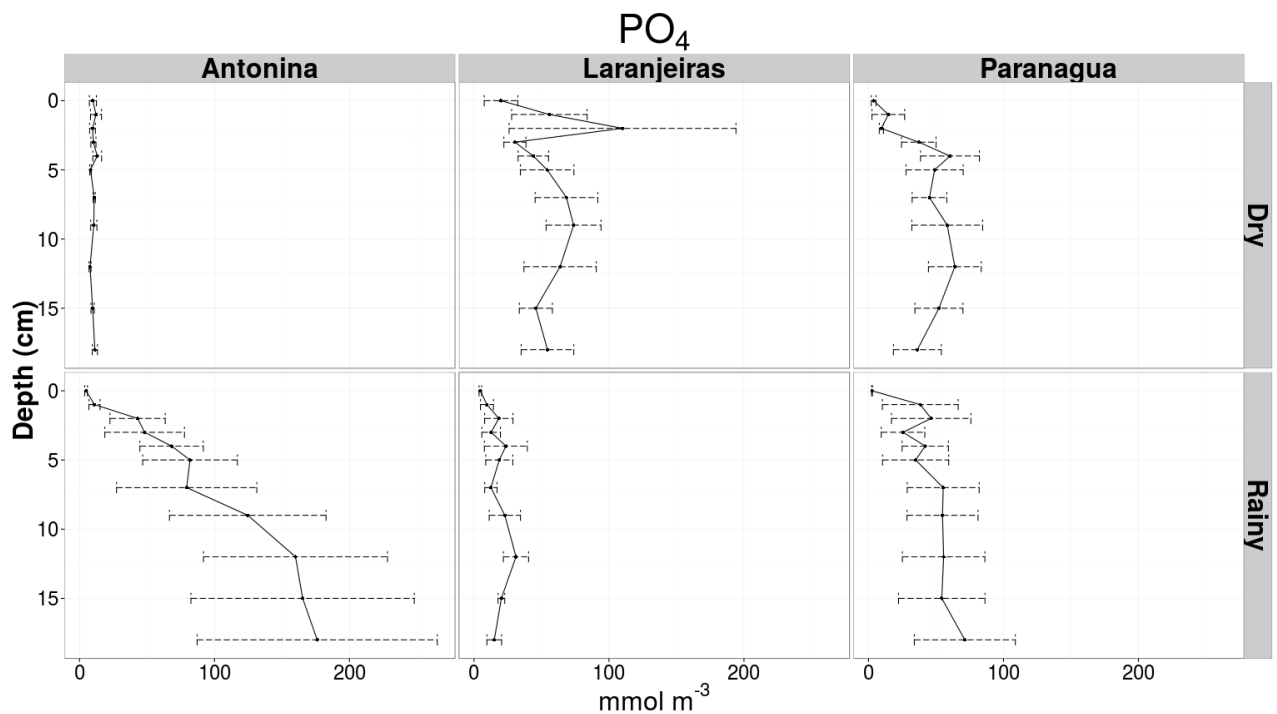


Figure 8. Profiles of PO_4^{3-} concentrations (mmol m^{-3}) in interstitial water in the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

Several studies in marine environments reveal a strong enrichment of porewater dissolved organic carbon suggesting that the benthic compartment acts as a source of DOC to overlaying water (Alperin et al, 1999 and references therein). However, DOC interstitial profiles did not to exhibit well-defined patterns in ECP (Figure 9). Enrichment of interstitial water was observed in dry and rainy periods, but a decreasing gradient at the first top centimeter was also verified, for instance, higher concentrations in the bottom water than in porewater were registered for Paranaguá site in dry period and for Paranaguá and Laranjeiras sites in summer. We speculate that this feature is caused by erosion/resuspension cycles fomented by tidal and wind action, as reported for sandy and mudflats (Pratt et al, 2014). The surficial sediment may be resuspended during the short time inundation by flood tide, releasing porewater solutes to overlaying flowing water (Ospina-Alvarez et al. 2014; Cabrita et al., 1999).

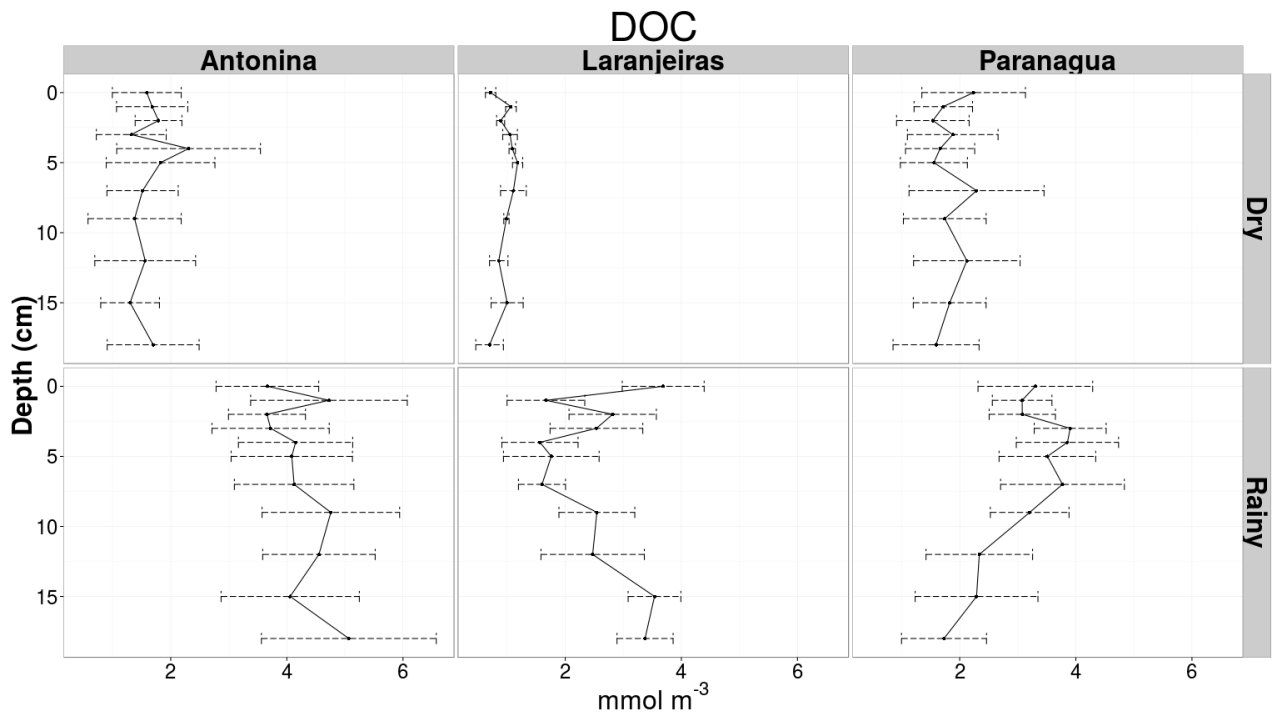
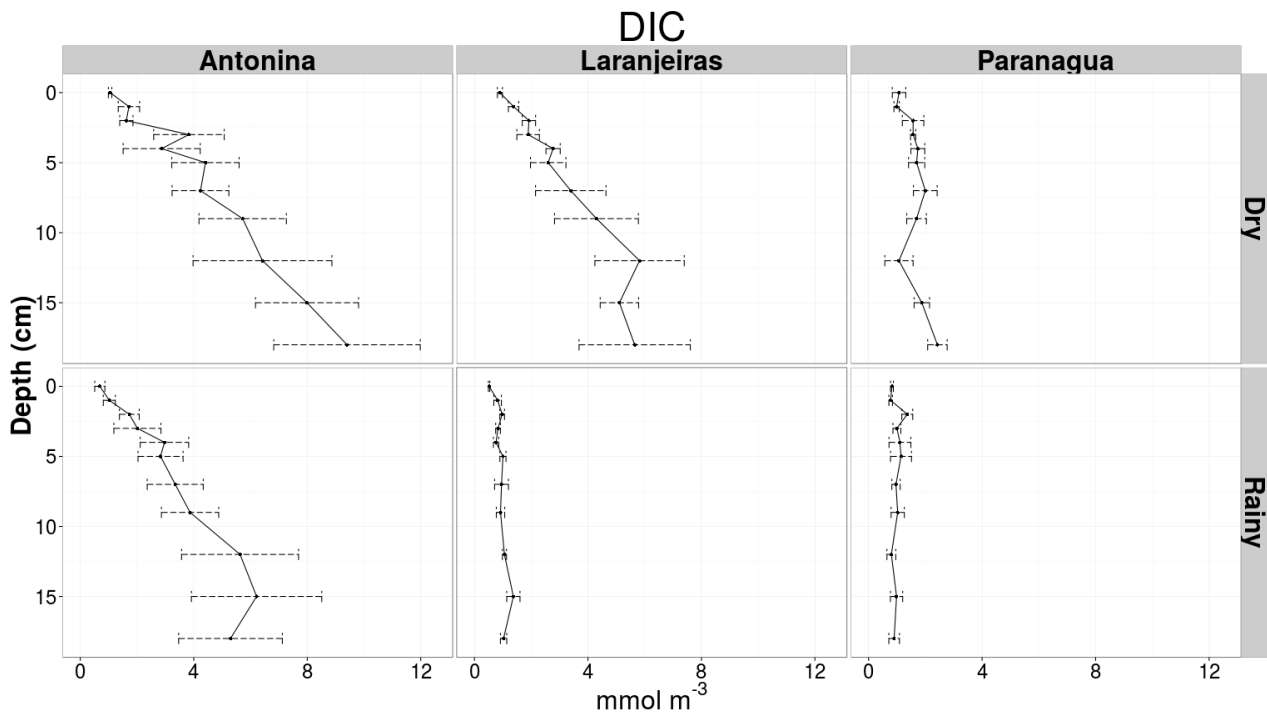


Figure 9. Profiles of DOC concentrations (mg/L) in interstitial water in the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

Moreover, the nature of organic matter affect its mineralization and preservation, and consequently the magnitude of bioelement fluxes at the sediment water interface. Dissolved inorganic carbon (DIC) concentrations in porewaters were estimated by the difference between total dissolved carbon (TC) and DOC. Profiles of interstitial DIC reveal higher enrichment in dry periods at Antonina and Laranjeiras sites and in the first month of rainy season at Antonina site (Figure 10). It is noteworthy that Antonina and Laranjeiras sites are both surrounded bay mangrove forests, source of more refractory organic matter. Sediments at the Paranaguá site presented higher grain size and lower organic matter content. Paranaguá site, nevertheless, receives more labile organic matter derived from anthropogenic sources, as sewage, and phytoplankton (Machado et al., 1997; Lana et al., 2000).

Other relevant aspect is the bioturbation intensity, as tidal flats host a wide spectrum of biengineers, associated to strict physico-chemical conditions (Passarelli et al., 2014). Nevertheless, anthropogenic stressors as eutrophication and climate changes may modify intertidal macrofauna

communities (Schrückel and Kröncke, 2013), becoming less obvious their role on biogeochemical cycling. Bioturbation, especially by Oligochaeta, was more



apparent at Laranjeiras site.

Figure 10. Profiles of DIC concentrations (mg/L) in interstitial water in the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras). Data shown as mean \pm S.E.

However, differences were not evident in porewater distribution of dissolved carbon species, suggesting a complex interplay of several factors, as tidal height, sediment characteristics and macrofauna presence (O'Brien et al., 2009), controlling the diagenetic reactions in intertidal mudflats.

Estimated annual diffusion fluxes of dissolved inorganic nitrogen and phosphorous were in the reported range for other intertidal flats (Meng et al., 2014). Nevertheless, we registered overall high concentrations of phosphate and dissolved inorganic nitrogen in overlaying water as compared to past data (Machado et al, 1997, Marone et al., 2005; Myzerkowski et al, 2012). Using the highest phosphate, ammonium and nitrate + nitrite concentrations in bottom water from past data, diffusion fluxes would be 5 to 20 times the fluxes presented in Table 1.

Table 1. Diffusion fluxes ($\text{mmol m}^{-2} \text{y}^{-1}$) at the sediment-water in intertidal mudflats from Antonina Bay, Paranaguá Bay and Laranjeiras Bay.

	FNH_4^+	FNO_x	FPO_4^{3-}	FDIC	FFe^{2+}	FMn^{2+}
Antonina	382	33	9	10351	20815	14931
Paranaguá	207	-20	17	1209	7892	4004
Laranjeiras	302	98	16	8771	9347	5379

This apparent discrepancy may be attributed to advective transport during inundation by flood tide (Cabrita et al., 1999; Sakamaki et al., 2006; Thibodeau et al., 2010; Riedel et al., 2011; Ospina-Alvarez et al., 2014; Santos et al., 2014), contradicting the view that the solute transport in mudflats is dominated by diffusion (for example, Beck et al., 2008).

Our initial hypothesis may be refuted as ANOVA has detected difference between period and site only for dissolved manganese fluxes at sediment-water interface (Table 2 and Figure 11) and between the months for dissolved Fe (Table 2). EPR signal is very intense at the first centimeter of sediments from Antonina Bay for Mn^{2+} in rainy warm time (Gallice, unpublished data). This is probably due to increased anaerobic metabolism associated to higher inputs of alloctone organic matter derived of fluvial drainage and higher autoctone primary productivity (Machado et al, 1997).

Table 2. ANOVA results. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$).

	F-NH4		F-NOx		F-PO4		F-DIC		F-Fe		F-Mn	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Period (P)	0.51	0.50	1.24	0.30	0.01	0.92	0.03	0.84	1.41	0.27	10.07	0.01*
Site (S)	0.56	0.59	0.86	0.46	0.28	0.76	3.85	0.08	0.43	0.66	17.94	0.002**
P*S	0.14	0.86	1.55	0.28	1.23	0.35	0.88	0.45	0.13	0.87	2.54	0.15
Month (P*S)	4.42	0.01*	0.82	0.57	1.08	0.42	0.52	0.78	5.60	0.001**	1.83	0.17

Our data permit to infer that Mn and Fe oxy-hydroxides fuel predominantly diagenetic processes related to the oxidation of sedimentary organic matter in the East-West axis. Sulphate reduction, however, especially at the Laranjeiras site, deserves future investigations.

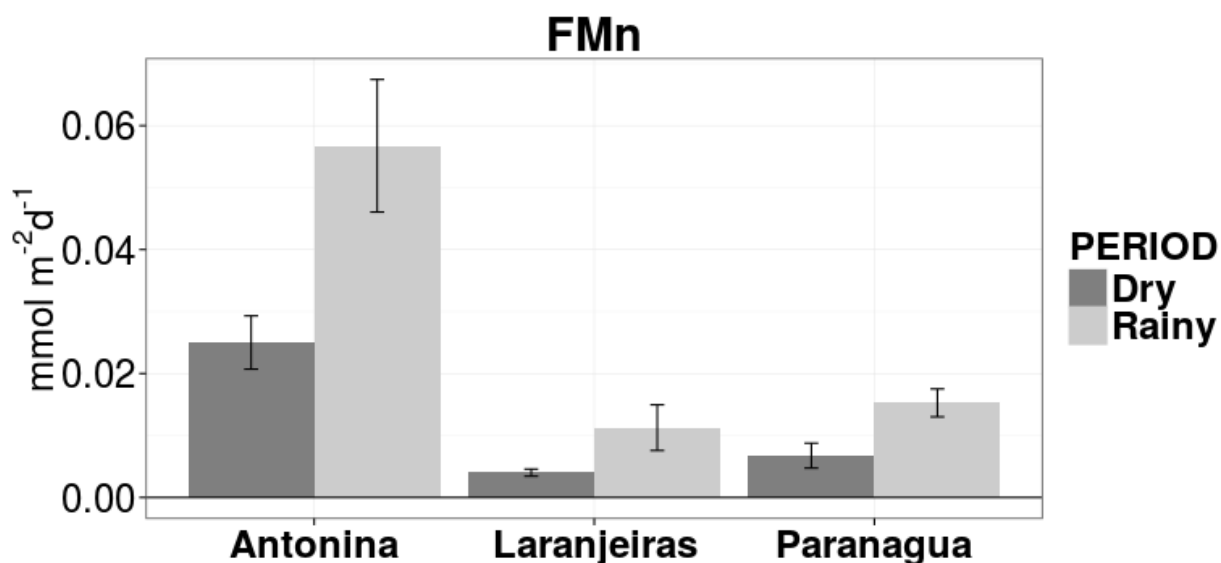


Figure 11. Fluxes of dissolved manganese at the sediment-water interface in the intertidal mudflats in dry and rainy periods, at the three sites (Bays of Antonina, Paranaguá and Laranjeiras).

DIC efflux from sediments is considered to be the sum of the depth-integrated rates of POC oxidation and PIC dissolution (Krumins et al., 2013). The positive fluxes of DIC from sediments (Table 1 and Figure 12) and the enrichment of TC in interstitial water (Figure 10), concomitantly with the dominance of anaerobic oxidation of organic matter, are evidence of the role of the benthic compartment on the equilibrium dynamics of the CO₂ system of the water column. Early diagenetic processes act as source of alkalinity and DIC to the overlying water contributing to the predominance of heterotrophic metabolism and supersaturation of CO₂ and emission to the atmosphere in estuarine systems (Borges, 2005). Climate change and rising temperature interacting with the increasing eutrophication may impose a rise of the anaerobic benthic metabolism and consequently shifts on the role of these systems from sink to source of CO₂.

5. Conclusions

Our results permit to conclude that the oxidation of the sedimentary organic matter was performed by suboxic pathways with predominance of Mn and Fe oxy-hydroxides reduction in intertidal mudflats of this subtropical estuarine system.

The sampling by rhizon system, although presents a series of advantages as *in situ* subsampling, may conduct to estimates not reliable about diffusive fluxes at sediment-water interface. The thin redox barrier in the top of the first millimeters of the sediment column is not accessed by this artifact.

In mudflat sediments of mesotidal estuaries like ECP, moreover, advection and resuspension processes fuelled by periodic inundation may constitute the key transport mechanisms of dissolved C, N, P and trace metals from benthic to pelagic compartment, and play a main role on the availability of these constituents for the estuarine biota.

In a scenario of climate change and rising temperature interacting with the increasing eutrophication, our results corroborate the common sense that the increase flux of DIC from sediments to the water and the stronger dominance of anaerobic pathways of organic matter oxidation will play as a negative feedback to rising atmospheric CO₂ and increasing acidification in subtropical shallow estuaries.

The presence of a thin redox barrier in the top of the first millimeters of the sediment column which is not accessed by this artifact. In mudflat sediments of mesotidal estuaries as ECP, moreover, advection and resuspension processes fuelled by periodic inundation may constitute the key transport mechanisms of dissolved C, N, P and trace metals from benthic to pelagic compartment, and play a main role on the availability of these constituents for the estuarine biota.

In a scenario of climate change and rising temperature interacting with the increasing eutrophication, our results corroborate the common sense that the increase flux of DIC from sediments to the water and the stronger dominance of anaerobic pathways of organic matter oxidation will play as a negative feedback to rising atmospheric CO₂ and increasing acidification in subtropical shallow estuaries.

6. REFERENCES

- Beck M., Dellwig O., Liebezeit G., Schnetger B. and Brumsack H.-J. (2008) Spatial and seasonal variations of sulphate, dissolved organic carbon, and nutrients in deep pore waters of intertidal flat sediments. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **79**, 307–316.
- Beck M., Dellwig O., Schnetger B. and Brumsack H.-J. (2008) Cycling of trace metals (Mn, Fe, Mo, U, V, Cr) in deep pore waters of intertidal flat sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **72**, 2822–2840.
- Casariello A. M., Luppi T., Iribarne O. and Daleo, P. (2011) Increase of organic matter transport between marshes and tidal flats by the burrowing crab *Neohelice* (*Chasmagnathus*) *granulata* Dana in SW Atlantic salt marshes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **401**, 110–117.
- Dang D. H., Lenoble V., Durrieu G., Mullot J.-U., Mounier S. and Garnier C. (2014) Sedimentary dynamics of coastal organic matter: An assessment of the porewater size/reactivity model by spectroscopic techniques. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **151**, 100–111.
- De Vittor C., Faganeli J., Emili A., Covelli S., Predonzani S. and Acquavita A. (2012) Benthic fluxes of oxygen, carbon and nutrients in the Marano and Grado Lagoon (northern Adriatic Sea, Italy). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **113**, 57–70.
- Dunn R. J. K., Robertson D., Teasdale P. R., Waltham N. J. and Welsh D. T. (2013) Benthic metabolism and nitrogen dynamics in an urbanised tidal creek: Domination of DNRA over denitrification as a nitrate reduction pathway. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **131**, 271–281.
- Engelsen A., Hulth S., Pihl L. and Sundbäck K. (2008) Benthic trophic status and nutrient fluxes in shallow-water sediments. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **78**, 783–795.
- Fonseca A., Brandini N., Machado E. C. and Brandini F. P. (2008) Spatial and seasonal microphytobenthos primary production in a subtropical intertidal flat, Paranaguá Bay, Paraná-Brasil. *Insula* **37**, 19–34.
- Jones C. A. and Jaffe B. E. (2013) Influence of history and environment on the sediment dynamics of intertidal flats. *Mar. Geol.* **345**, 294–303.
- Keene A. F., Johnston S. G., Bush R. T., Burton E. D., Sullivan L. A., Dundon M., McElnea A. E., Smith C. D., Ahern C. R. and Powell B. (2014) Enrichment and heterogeneity of trace elements at the redox-interface of Fe-rich intertidal sediments. *Chem. Geol.* **383**, 1–12.
- Krumins V., Gehlen M., Arndt S., Van Cappellen P. and Regnier P. (2013) Dissolved inorganic carbon and alkalinity fluxes from coastal marine sediments:

model estimates for different shelf environments and sensitivity to global change. *Biogeosciences* **10**, 371–398.

Leote C., Epping E. and Van Cappellen P. (2013) Phosphate sorption from seawater solutions: Particle concentration effect. *Mar. Chem.* **148**, 52–62.

Meng J., Yao Q. and Yu Z. (2014) Particulate phosphorus speciation and phosphate adsorption characteristics associated with sediment grain size. *Ecol. Eng.* **70**, 140–145.

Monien P., Lettmann K. A., Monien D., Asendorf S., Wöfl A.-C., Lim C. H., Thal J., Schnetger B. and Brumsack, H.-J. (2014) Redox conditions and trace metal cycling in coastal sediments from the maritime Antarctic. *Geochim. Cosmochim. Acta* **141**, 26–44.

Mort H. P., Slomp C. P., Gustafsson B. G. and Andersen T. J. (2010) Phosphorus recycling and burial in Baltic Sea sediments with contrasting redox conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **74**, 1350–1362.

O'Brien A. L., Volkenborn N., van Beusekom J., Morris L. and Keough M. J. (2009) Interactive effects of porewater nutrient enrichment, bioturbation and sediment characteristics on benthic assemblages in sandy sediments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **371**, 51–59.

Ospina-Alvarez N., Caetano M., Vale C., Santos-Echeandía J., Bernárdez P. and Prego R. (2014) Exchange of nutrients across the sediment–water interface in intertidal ria systems (SW Europe). *J. Sea Res.* **85**, 349–358.

Pagès A., Welsh D. T., Robertson D., Panther J. G., Schäfer J., Tomlinson R. B. and Teasdale P. R. (2012) Diurnal shifts in co-distributions of sulfide and iron(II) and profiles of phosphate and ammonium in the rhizosphere of *Zostera capricorni*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **115**, 282–290.

Passarelli C., Olivier F., Paterson D. M., Meziane T. and Hubas C. (2014) Organisms as cooperative ecosystem engineers in intertidal flats. *J. Sea Res.* **92**, 92–101.

Rao A. M. F., Malkin S. Y., Montserrat F. and Meysman F. J. R. (2014) Alkalinity production in intertidal sands intensified by lugworm bioirrigation. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **148**, 36–47.

Sakamaki T., Nishimura O. and Sudo R. (2006) Tidal time-scale variation in nutrient flux across the sedimentewater interface of an estuarine tidal flat. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **67**, 653–663.

Sandrini-Neto, L., Camargo, M.G. 2012. GAD: na R package for ANOVA designs from general principles. Rpackage version 1.1.1 <http://CRAN.R-project.org/package=GAD>.

Santos I. R., Bryan K. R., Pilditch C. A. and Tait D. R. (2014) Influence of porewater exchange on nutrient dynamics in two New Zealand estuarine intertidal flats. *Mar. Chem.* **167**, 57–70.

Testa J. M., Brady D. C., Di Toro D. M., Boynton W. R., Cornwell J. C. and Kemp W. M. (2013) Sediment flux modeling: Simulating nitrogen, phosphorus, and silica cycles. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **131**, 245–263.

Thibodeau B., Lehmann M. F., Kowarzyk J., Mucci A., G elinas Y., Gilbert D., Maranger R. and Alkhatib M. (2010) Benthic nutrient fluxes along the Laurentian Channel: Impacts on the N budget of the St. Lawrence marine system. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **90**, 195–205.

Tromp T. K., Van Cappellen P. and Key R. M. (1995) A global model for the early diagenesis of organic carbon and organic phosphorus in marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **59**, 1259–1284.

Zhang K., Cheng P.-D., Zhong B.-C. and Wang D.-Z. (2012) Total phosphorus release from bottom sediments in flowing water. *J. Hydrodyn.* **24**, 589–594.

Zhang L., Wang L., Yin K., L u Y., Zhang D., Yang Y. and Huang X. (2013) Pore water nutrient characteristics and the fluxes across the sediment in the Pearl River estuary and adjacent waters, China. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **133**, 182–192.

BRICKER, S. B.; FERREIRA, J. G.; SIMAS, T. (2003) *An integrated methodology for assessment of estuarine trophic status*. **Ecological Modelling**. V. 169: 36-60.

KNOPPERS, B. A.; BRANDINI, F. P.; THAMM, C. A. (1987). **Ecological studies in the bay of Paranaguá. Some physical and chemical characteristics**. *Nerítica*, Curitiba, 2, p. 1-36.

LAMOUR M. R., SOARES C. R., CARRILHO J. C. (2004). Mapas de parâmetros texturais de sedimentos de fundo do Complexo Estuarino de Paranaguá – PR. Ed. UFPR. **Boletim Paranaense de Geociências** 55, 77 – 82.

LANA, P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. (2000). **The Subtropical Estuarine Complexo f Paranaguá Bay, Brasil. Coastal Marine Ecosystems of Latin America**. Seelinger, U. & Kjerfve, B.; eds. **Ecological Studies**. (144): 131- 145.

Machado EC, Daniel CB, Brandini N, Queiroz RLV (1997) Temporal and spatial dynamics of nutrients and particulate suspended matter in Paranaguá Bay, Pr, Brazil. *Nerítica* 11:15–34.

MARONE, E.; MACHADO, E. C.; LOPES, C. R. M.; SILVA, E. T. (2005) Land-ocean fluxes in the Paranaguá Bay Estuarine System. *Brazilian Journal of Oceanography*, São Paulo, v. 53, n. 3-4, p. 169-181.

Marone E, Jamiyanaa D (1997) Tidal characteristics and a variable boundary numerical model for the M2 tide for the estuarine complex of the Bay of Paranaguá, PR, Brazil. *Nerítica* 11(1–2):95–107.

Choueri, R.B., Cesar, A., Torres, R.J., Abessa, D.M., Morais, R.D., Pereira, C.D., Nascimento, M.R., Mozeto, A.A., Riba, I., DelValls, T.A. (2009) Integrated sediment quality assessment in Paranaguá Estuarine System, Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1824-1831.

Sá, F., Machado, E. C., Ângulo, R. J., Veiga, F. A., Brandini, N. (2006) Arsenic and heavy metals in sediments near Paranaguá port, southern Brasil. *Journal of Coastal Research*, n. 39, p. 1066-1068.

LIEBEZEIT G., BREPOHL D., RIZZI J., GUEBERT F., KROME M., MACHADO E., PIJANOWSKA U. (2011). DDT in Biota of Paranaguá Bay, Southern Brazil: Recent Input and Rapid Degradation. **Water, Air and Soil Pollution** (Print), p. 2137-2143.

SEEBERG-ELVERFELDT, J.; SCHLÜTER, M.; FESEKER, T.; KÖLLING, M.(2005). Rhizon sampling of porewaters near the sediment-water interface of aquatic systems. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 3, p. 361–371.

Katsumiti, A., Valdez Domingos, F.X., Azevedo, M., Da Silva, M.D., Damian, R.C., Almeida, M.I., Silva de Assis, H.C., Cestari, M.M., Randi, M.A., Ribeiro, C.A., Freire, C.A. (2009) An assessment of acute biomarkers responses in the demersal catfish *Cathorops spixii* after de Vicuña oil spill in a harbor estuarine area in southern Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 152, 209-222.

ANGELI, J.L.F., TREVIZANI, T.H., PORTELLA RIBEIRO, A., MACHADO, E.C., FIGUEIRA, R.C.L., MARKERT, B., FRAENZLE, S., WUENSCHMAN, S. (2013). Arsenic and other trace elements in two catfish species from Paranaguá Estuarine Complex, Paraná, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, 185 (10): 8333-8342.

GRASSHOFF, K.; ERHARDT, M.; KREMLING, K. **Methods of seawater analysis**. 2. ed. Weinheim: Verlag Chemie, 1993.

GUO, Y. Studies on *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada in the Dalian Bight, Liaoning, China. **Oceanol. Limnol. Sin. Haiyang-Yu-Huzhao**, v. 25, n. 2, p. 211-215, 1994.

LI, Y-H & GREGORY. Diffusion of ions in sea water and in deep-sea sediments. **Geochim. Cosmochim.** V. 38, pg 703-714, 1974.

SCHROPP, S. J.; LEWIS, G. F.; WINDOM, H. L.; RYAN, J. D.; CALDER, F. D.; BURNEY, L. C. Interpretation of metal concentrations in estuarine sediments of Florida using Al as a reference element. **Estuaries**, v. 13, n. 3, p. 227-235, 1990.

SEEBERG-ELVERFELDT, J.; SCHLÜTER, M.; FESEKER, T.; KÖLLING, M.; Rhizon sampling of porewaters near the sediment-water interface of aquatic systems. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 3, p. 361–371, 2005.

BARBIER, E. B.; HACKER, S. D.; KENNEDY, C.; KOCH, E. W.; STIER, A. C.; SILLIMAN, B. R. The value of estuarine and coastal ecosystem services. **Ecological Monographs**, v. 81 (2), p. 169-193, 2011.

Canfield D. E., Thamdrup B. and Hansen J. W. (1993) The anaerobic degradation of organic matter in Danish coastal sediments: iron reduction, manganese reduction, and sulfate reduction. *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 3867–3883.

Froelich P., Klinkhammer G., Bender M., Luedtke N., Heath G., Cullen D., Dauphin P., Hammond D., Hartman B. and Maynard V. (1979) Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern Equatorial Atlantic – Suboxic diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta* 43, 1075–1090.

Joye, S.B.; de Beer, D.; Cook, P.L.M. (2009). Biogeochemical dynamics of coastal tidal flats, *in*: Perillo, G.M.E. *et al.* (Ed.) (2009). *Coastal wetlands: an integrated ecosystem approach*. pp. 345-373.

Borges A.V. 2005. Do We Have Enough Pieces of the Jigsaw to Integrate CO₂ Fluxes in the Coastal Ocean? *Estuaries* 28 (1): 3–27

Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69, 373–386.

Liu, C., Kroeze, C., Arjen Y. Hoekstra A. Y., Gerbens-Leenes, W. 2012. Past and future trends in grey water footprints of anthropogenic nitrogen and phosphorus inputs to major world rivers. *Ecological Indicators* 18:42–49.

Spalding M. D., Ruffo, S., Lacambra, C., Meliane, I., Hale L. Z., Shepard, C. C., W. Beck, M. W. 2014. The role of ecosystems in coastal protection: Adapting to climate change and coastal hazards. *Ocean & Coastal Management* 90:50-57.

Dalsgaard, T., Thamdrup, B., Canfield, D.E., 2005. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the marine environment. *Research in Microbiology* 156, 457-464.

Dalsgaard T., Canfield D. E., Petersen J., Bo Thamdrup B., Acuna-González J. 2003. N₂ production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica. *Nature* 422:606-608.

Kuypers M. M. M., Sliekers, A. O., Lavik G., Markus Schmid M., Barker Jørgensen B. B., J. Kuenen G., Damsté J. J. S., Strous M., Jetten M. S. M. 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. *Nature* 422:608-611.

**ANEXO B – CAPÍTULO 4 - COUPLING SPECTROSCOPIC AND
CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES TO THE EVALUATION OF THE
DEPOSITIONAL HISTORY OF HYDROCARBONS IN A
SUBTROPICAL ESTUARY**

Coupling spectroscopic and chromatographic techniques to the evaluation of the depositional history of hydrocarbons in a subtropical estuary

* César C. Martins ^{a,b,c}, § Marta E. Doumer ^d, Wellington C. Gallice ^b, § Ana Caroline Cabral ^b,
§ Ana Lúcia L. Dauner ^b, § Fernanda D. Cardoso ^c, § Natiely N. Dolci ^b, § Luana M. Camargo ^b,
Paulo A. L. Ferreira ^e, Rubens C. L. Figueira ^e and Antonio S. Mangrich ^{d,f}

^a Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 61, 83255-976, Pontal do Paraná, PR, Brazil.

^b Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos (PGSISCO), Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 61, 83255-976, Pontal do Paraná, PR, Brazil.

^c Programa de Pós-Graduação em Geologia, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19.001, 81531-980, Curitiba, PR, Brazil.

^d Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19032, 81531-980, Curitiba, PR, Brazil.

^e Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, Praça do Oceanográfico, 191, 05508-900, São Paulo, SP, Brazil.

^f Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19032, 81531-980, Curitiba, PR, Brazil.

* Corresponding author: ccmart@ufpr.br; phone/fax: +55 41 35118637

§ These authors contributed equally to this work.

Abstract

Spectroscopic and chromatographic techniques can be used together in the evaluation of hydrocarbon inputs to coastal environments such as the Paranaguá estuarine system (PES) located in the SW Atlantic, Brazil. Historical inputs of aliphatic hydrocarbons (AHs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were analyzed using two sediment cores from the PES. The AHs were related to the presence of biogenic organic matter and degraded oil residues. The PAHs were associated with petroleum and combustion sources. The highest hydrocarbons concentrations were related to oil spills, while relatively low levels could be attributed to the decrease in oil usage during the global oil crisis, as well as to extremely dry weather conditions. The results of Electron Paramagnetic Resonance were in agreement with the absolute AHs and PAHs concentrations measured by chromatographic techniques, while Near-Infrared Spectroscopy results were coherent with Unresolved Complex Mixture (UCM)/total *n*-alkanes ratios. These findings suggest that the combination of applied techniques could increase the accuracy of assessment of contamination in sediments.

Keywords: petroleum hydrocarbons; sediment cores; Paranaguá estuarine system; spectroscopic techniques; chromatographic techniques; SW Atlantic.

Capsule: *“Spectroscopic and chromatographic techniques could be used together in the evaluation of hydrocarbon inputs to coastal environments”.*

Highlights

- > Historical inputs of hydrocarbons in a subtropical estuary were evaluated.
- > Spectroscopic and chromatographic methods were used in combination.
- > High hydrocarbon concentrations were related to anthropogenic activities.
- > Low hydrocarbon levels could be explained by the 1970s global oil crisis.

1. Introduction

Petroleum hydrocarbons are commonly found as ubiquitous constituents of coastal environments, because they are accumulated in estuarine sediments and are preserved over time. As sediments act as sinks of petroleum hydrocarbons, sediment cores have been widely used to reconstruct the geochemical histories of estuarine systems (Hostettler et al., 1999).

PAHs are organic pollutants prevalent in the recent sediments of estuaries (Pereira et al., 1999), derived from anthropogenic sources such as the combustion of biomass and fossil fuels (pyrogenic sources) (Hites et al., 1977), as well as spillages of petroleum and its by-products (petrogenic sources) (Gogou et al., 2000). The United States Environmental Protection Agency (USEPA) include sixteen PAHs on the lists of priority pollutants, due to their mutagenic and carcinogenic effects (Venturini et al., 2008).

AHs can be derived from biogenic sources, such as marine biota and higher plants, or from anthropogenic sources, such as urban runoff, atmospheric deposition, and industrial inputs (Aboul-Kassim and Simoneit, 1996). The total AHs consist of a wide spectrum of *n*-alkanes and branched compounds, as well as an unresolved complex mixture (UCM) that is generally associated with the presence of degraded oil residues (Sutton et al., 2005).

Spectroscopic and chromatographic techniques can be used together in the evaluation of hydrocarbon inputs to estuarine systems (Morel et al., 1991). A single analytical technique may not be sufficient for an accurate evaluation, and application of a combination of methods can help to elucidate the origins of hydrocarbons in the environment. Recently, gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and visible and near-infrared (VIS-NIR) spectroscopy have been used in combination with various multivariate analytical techniques to predict total PAHs in contaminated soils (e.g. Okparanma et al., 2014), but studies of contaminated estuarine sediments are rare. Electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy is another technique that can be used to provide information about oxidation

states and complexes of organic and inorganic matter with paramagnetic ions, such as those associated with the action of microorganisms in reducing environment media (Mangrich et al., 2009).

The aims of this work were: (i) determination of the concentrations and historical inputs of AHs and PAHs in sediments from the PES, in order to assess the temporal distributions and possible sources of these compounds related to urban and harbor development; (ii) characterization of sediment samples by spectroscopic techniques; and (iii) comparison of two different methods (spectroscopic and chromatographic) as complementary and effective tools for the evaluation of hydrocarbon inputs.

2. Study area

The Paranaguá estuarine system (PES), located on the southeastern Brazilian coast, SW Atlantic ($25^{\circ}30'S$; $48^{\circ}25'W$) (Fig. 1), has an area of approximately 612 km² and comprises two water bodies. The western section formed by the Paranaguá and Antonina Bays (around 260 km²) is economically the most important.

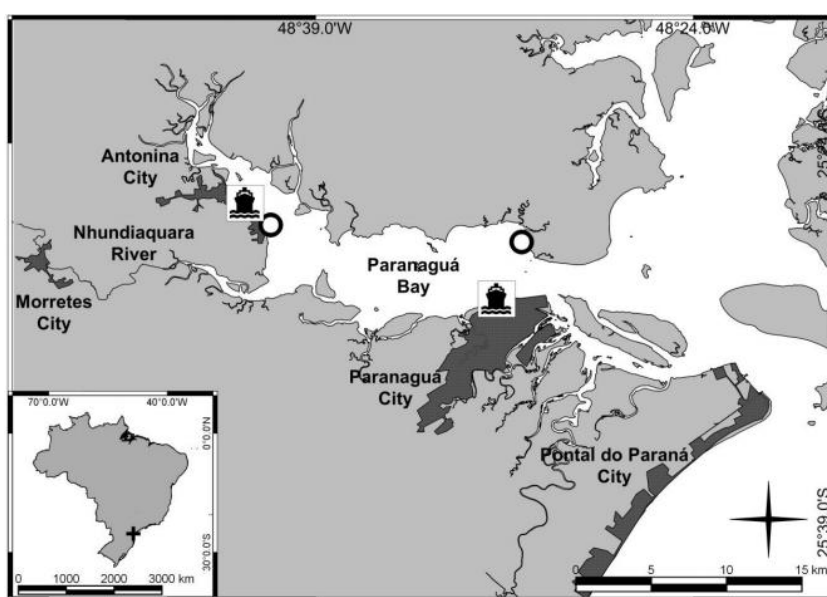


Fig. 1. Locations of the sampling sites (O) and the harbors (Ⓜ) in the PES, SW Atlantic, Brazil.

This region is a designated Environmental Protection Area and since 1995 has been considered a Biosphere Reserve by the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), due to its ecological importance (Lana et al., 2001; Martins et al., 2012).

The population of the estuary region is concentrated in the towns of Paranaguá and Antonina with 149,467 and 19,414 inhabitants, respectively (IBGE, 2014). The main economic activities include fishing and aquaculture, urban development and tourism, petrochemical facilities and the harbors of Antonina (built in 1920) and Paranaguá (built in 1872), that is considered the main South American grain terminal and the third most important in terms of loading and unloading operations, with 8,540,000 tons transported in 2009 (Choueri et al., 2009; Martins et al., 2010a; 2011a).

3. Material and Methods

3.1. Sampling

Two sediment cores were collected in different regions of the PES (the Antonina and Paranaguá bays) in November 2013. One core (PGA) was collected near the urban and harbor area of the town of Paranaguá. The other core (ANT) was collected close to the town of Antonina, in the inner part of the estuary and close to the mouths of the Cacatu and Cachoeira rivers. The sediment cores (diameter = 10 cm; length = 27 cm) were cut into sections at intervals of 2 cm (Table 1). Each sediment sample was placed in a pre-cleaned aluminum container and stored at -20 °C. The sediments were frozen, freeze-dried, powdered, weighed, and stored until analyzed in the laboratory.

Table 1. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons concentrations, determined by chromatographic techniques and related properties from sediment core samples collected in Paranaguá estuarine system, SW Atlantic, Brazil.

Core	Section [cm]	Estimated year	Total AHs	Total <i>n</i> -alkanes	UCM	short-chain <i>n</i> -alk	long-chain <i>n</i> -alk	Total PAHs	% perylene/ Σ (5-ring PAHs)
PGA	0-2	2014-2006	136.8	10.66	119.4	1.74	8.92	812.1	69.0
	2-4	2006-1999	89.29	12.98	70.96	0.89	12.09	458.4	71.8
	4-6	1999-1991	132.1	8.91	117.7	0.98	7.94	481.4	40.4
	6-8	1991-1983	111.7	9.20	98.38	0.75	8.45	338.3	67.1
	8-10	1983-1976	93.89	9.37	80.00	0.48	8.89	185.9	62.5
	11-13	1972-1964	65.53	7.03	55.12	0.31	6.72	154.1	64.0
	14-16	1960-1952	190.8	10.43	174.7	1.01	9.42	381.6	59.1
	17-19	1949-1941	174.8	7.16	162.3	0.73	6.42	239.2	59.3
	20-22	1937-1929	20.44	6.04	11.22	0.26	5.77	21.35	52.8
	23-25	1926-1918	20.46	6.27	11.23	0.04	6.23	27.90	62.8
	26-27	1916-1910	23.88	6.29	13.94	0.02	6.37	15.08	68.0
ANT	0-2	2014-2006	194.6	28.14	155.4	0.92	27.22	1013.2	41.8
	2-4	2006-1999	134.2	33.74	95.96	0.53	33.21	203.7	78.0
	4-6	1999-1991	722.6	44.00	665.8	1.84	42.17	718.0	80.8
	6-8	1991-1983	112.3	31.56	70.23	0.36	31.19	231.4	82.6
	8-10	1983-1976	105.9	29.83	66.94	0.40	29.43	176.5	79.3
	11-13	1972-1964	141.7	35.09	96.43	0.60	34.49	225.1	85.0
	14-16	1960-1952	126.3	30.95	84.69	0.52	30.43	218.2	83.4
	17-19	1949-1941	92.54	31.52	51.77	0.41	31.11	188.3	81.6
	20-22	1937-1929	94.46	32.56	53.53	0.30	32.25	145.3	81.3
	23-25	1926-1918	108.6	34.90	64.60	0.58	34.32	195.2	80.5
	26-27	1916-1910	193.8	30.38	154.5	0.71	29.67	305.0	83.5

Total AHs = Total Aliphatic Hydrocarbons ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight), Total *n*-alkanes = $\Sigma(n\text{-C}_{10} - n\text{-C}_{40})$ *n*-alkanes ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw), UCM = Unresolved Complex Mixture ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw), short-chain *n*-alk (as defined by Commendatore and Esteves, 2004) = $\Sigma n\text{-C}_{10-20}$ *n*-alkanes ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw), long-chain *n*-alk = $\Sigma n\text{-C}_{21-40}$ *n*-alkanes ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dw); Total PAHs = Total Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ dw), % perylene/ Σ (PAHs 5 rings) = % of perylene in total penta-aromatic isomers.

3.2. Sedimentation rate and dating of sediment cores

For radionuclide measurements, approximately 20 g portions of sediment were transferred to sealed cylindrical polyethylene containers for gamma counting in an EG&G ORTEC (Oak Ridge, TN, USA) low-background gamma spectrometer (hyperpure Ge detector, Model GMX25190P).

The gamma spectra were analyzed using Maestro v. 6 software (EG&G ORTEC) and the photopeaks used in this analysis were 46.52 keV for ^{210}Pb and 609.31 keV for ^{226}Ra . The 609.31 keV photopeak corresponds to gamma-ray emissions of a ^{226}Ra daughter (^{214}Bi).

The activities of the radionuclides of interest in a certified reference material (IAEA-385) were close to the reported values, with mean deviations and errors that did not exceed 6%, which is the acceptable limit (Beckert et al., 2010).

3.3. Determination of sediment particle size

Grain size distributions were measured by laser granulometry, in the size range between 0.02 and 2000 μm , using a Microtrac Bluewave S3500 instrument. Small aliquots of this treated material (with 10% hydrogen peroxide and 10% hydrochloric acid) were taken from the previously shaken bottles and repeatedly injected into the dispersion module of the analyzer. The method described by Folk and Ward (1957) was used to estimate the sediment parameters, using the R-rysgran software package.

3.4. Chromatographic analyses

The analytical procedure for hydrocarbons analysis was based on the United Nations Environment Programme method (UNEP, 1992). Approximately 20 g of sediment were extracted over 8 h using 80 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane (DCM) and *n*-hexane. A mixture of four deuterated PAHs (acenaphthene- d_{10} , phenanthrene- d_{10} , chrysene- d_{12} , and perylene- d_{12}) and two aliphatic hydrocarbons (1-hexadecane and 1-eicosene) was added before each blank or sample extraction as surrogates. The DCM/*n*-hexane extract was purified by column chromatography using 5% deactivated alumina (1.8 g) and silica (3.2 g). The elution was performed with 10 mL of *n*-hexane (fraction 1 – aliphatic hydrocarbons) and 15

mL of a 3:7 DCM/*n*-hexane mixture (fraction 2 – PAHs). A 1 μ L aliquot of each extract was injected for gas chromatographic analysis.

The instrumental analysis procedures used to quantify the AHs and PAHs were described by Dauner et al. (2015). Analysis of the AHs was performed with an Agilent GC (Model 7890A) equipped with flame ionization detection (FID), while the PAHs were analyzed with an Agilent GC (Model 7890A) coupled to a mass spectrometer (Agilent 5973N inert MSD with Triple-Axis Detector). A fused silica capillary column coated with 5% diphenyl/dimethylsiloxane (30 m, 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness) was used to separate the AHs and PAHs. The oven temperature was programmed to ramp from 40 $^{\circ}$ C to 60 $^{\circ}$ C at 20 $^{\circ}$ C min^{-1} , then to 250 $^{\circ}$ C at 5 $^{\circ}$ C min^{-1} , and finally to 300 $^{\circ}$ C at 6 $^{\circ}$ C min^{-1} , with a final hold for 20 min. Data acquisition during the PAHs analyses was performed in SIM (selected ion monitoring) mode. The individual *n*-alkanes were identified by matching their retention times with those for standard mixtures (*n*-C₁₀ to *n*-C₄₀) at concentrations ranging from 0.25 to 10.0 $\mu\text{g L}^{-1}$. The PAHs were identified by matching the retention times and ion mass fragments for a standard mixture (NIST 2260) at concentrations from 0.10 to 1.50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Procedural blanks analyzed showed that no peaks interfered with the analyses of the target compounds. Mean recoveries of the spiked surrogates varied from 47 to 89 %. The detection limits (DL) were 0.001 $\mu\text{g g}^{-1}$ for the *n*-alkanes and 0.5 ng g^{-1} for the PAHs. The measured target hydrocarbon concentrations in the reference material (IAEA-408) were in agreement with the certified values, to within 90-110%.

3.5. Spectroscopic analyses

3.5.1 Electron paramagnetic resonance (EPR)

Contamination of water bodies with aromatic hydrocarbons, petroleum components, may lead an anoxic conditions by the action of microorganisms in the oxidation of these

contaminants when it is slow. Thus, the EPR technique may be useful to investigate the reducing conditions of sediment, identifying Mn^{+2} , resulting from the reduction of MnO_2 and Fe^{+3} which undergoes reduction to Fe^{+2} . The EPR analyses employed a Bruker EMX spectrometer, operated at 9.5 GHz (X-band) with a modulation frequency of 100 kHz. A weak pitch free radical standard ($g = 2.0028$), supplied by Bruker in a quartz tube, was used to estimate accurate g -values. The measurements of the solid samples were performed in quartz tubes (3 mm ID) at room temperature (300 K). Principal component analysis (PCA) was performed using Matlab v.7.0.1 (Mathworks, Sherborn, MA, USA), with auto-scaling as a preprocessing technique.

3.5.2. Diffuse reflectance ultraviolet–visible spectroscopy (DRUV–VIS)

DRUV-VIS analyses were performed with a Shimadzu UV-2401PC spectrophotometer equipped with a Model 240-52454-01 integration sphere accessory. The reflectance spectra were converted to the Kubelka-Munk remission function, defined by: $f(K-M) = (1-R)^2/2R = k/s$, where R is the reflectance, k is the absorption coefficient, and s is the scattering coefficient. The procedure used the second derivative mode of the Kubelka-Munk function. OriginPro v. 7.5 software was used to improve the spectral resolution (Nicolini et al., 2011).

3.5.3. Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS)

In the near infrared region, and combinations occur vibrational overtone transitions, especially from the groups -OH, -NH, -SH, and -CH (Pasquini, 2003). It is useful to register the chemical composition of sediments and distinguish between polluted and unpolluted sites (Mangrich et al., 2009). The samples were scanned with an FTS 3500 GX spectrometer (Bio-Rad, USA). The NIR and MIR spectra of the samples were recorded in the frequency (λ)

range from 7000 to 400 cm^{-1} (NIR: 7000 to 4000 cm^{-1} ; MIR: 4000 to 400 cm^{-1}). PCA analysis of the data was performed using Matlab v. 7.0.1. Spectral preprocessing carried out included normalization, smoothing (filter width was 16 and polynomial order was 2), and auto-scaling.

4. Results and Discussion

4.1. Sedimentation rates and ^{210}Pb profiles

Vertical profiles resulting from application of the CIC (constant initial concentration) model (Robbins and Edgington, 1975) to the ^{210}Pb sediment profiles are shown in Fig. 2. The Pearson correlation coefficients (r) were statistically significant ($\alpha = 0.05$) in all cases, in agreement with the assumption of exponential decay of unsupported ^{210}Pb necessary for the application of this model. The mean sedimentation rates were $0.26 \pm 0.03 \text{ cm yr}^{-1}$ for PGA and $0.49 \pm 0.05 \text{ cm yr}^{-1}$ for ANT.

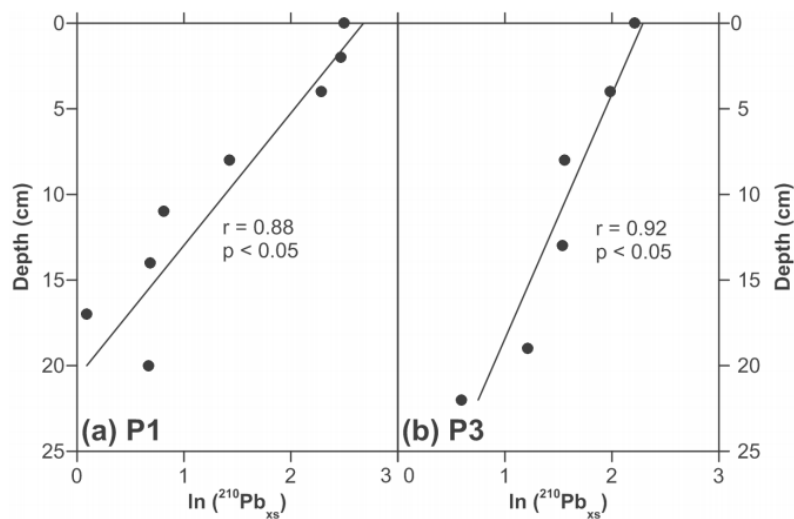


Fig. 2. CIC (constant initial concentration) model applied to the vertical profiles of $\ln(^{210}\text{Pb}_{xs})$ in the PES sediment cores, with Pearson correlation analyses. (a) PGA, (b) ANT.

The vertical profiles of ^{137}Cs in the cores (Fig. 3) corroborated the results of the CIC model, with the deposition in 1963 attributed to global radioactive fallout from past nuclear

tests, which was assumed to be the only source of ^{137}Cs inputs in the Southern Hemisphere (Abril, 2003).

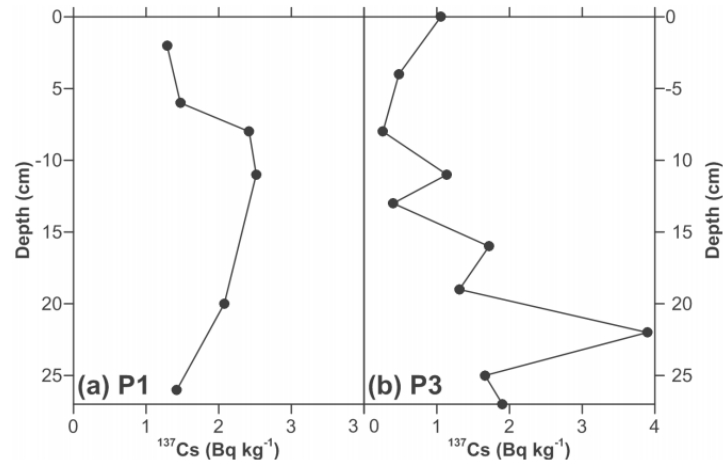


Fig. 3. Vertical profiles of ^{137}Cs (in Bq kg^{-1}) in the PES sediment profiles. (a) PGA, (b) ANT.

This deposition was found at a depth of 11 cm (13 cm, according to the results of the CIC model) in the PGA core, and at a depth of 22 cm (24 cm according to the CIC model) in the ANT core.

4.2. Levels of hydrocarbons

The total AHs concentrations varied widely over the depth of the PGA core. An average of $21.6 \pm 1.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ (dry weight basis) was obtained for the deeper layers (>20 cm), and a relatively constant concentration in the first 10 cm (mean value of $112.8 \pm 19.3 \mu\text{g.g}^{-1}$). In the case of the ANT core, the total AHs concentration remained fairly constant with depth, except in the top layers (Table 1). The maximum concentration of total AHs was found in the 4-6 cm section ($722.6 \mu\text{g.g}^{-1}$), while the remaining layers presented a mean concentration of $130.5 \pm 35.3 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Fig. 4).

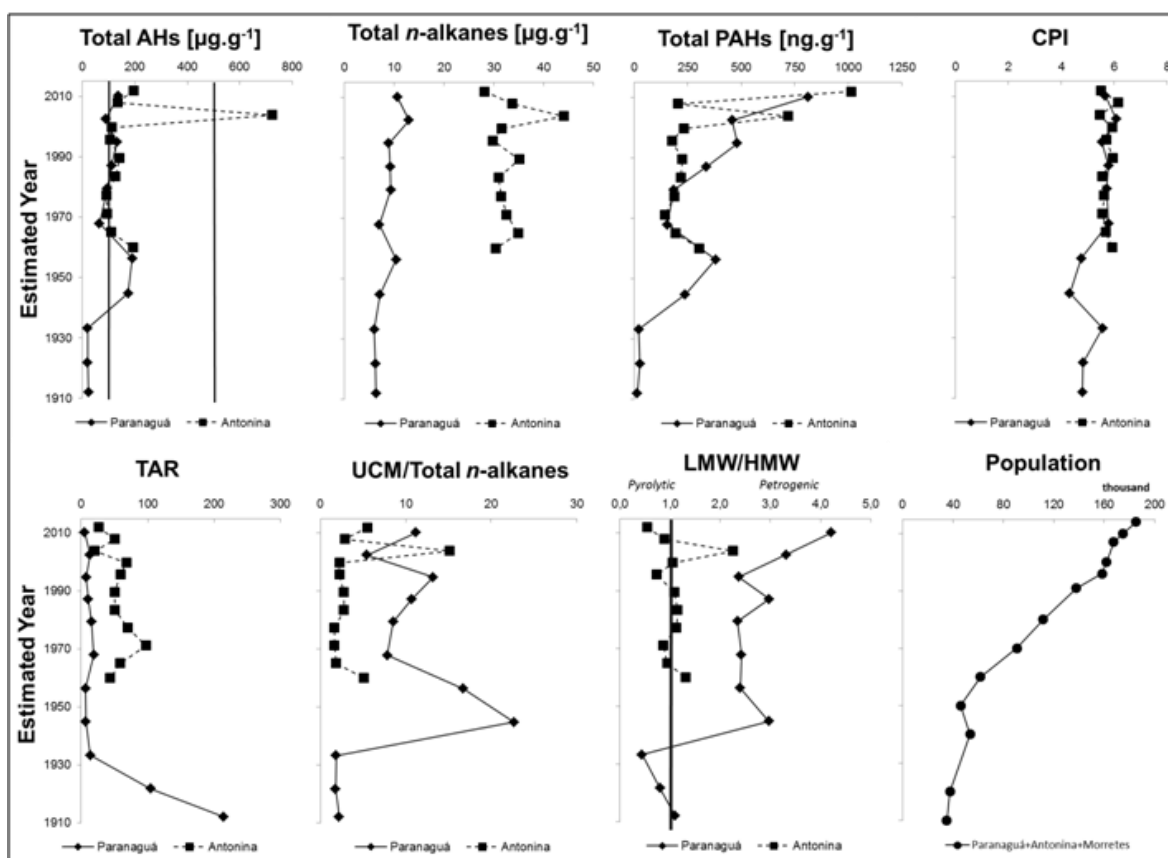


Fig. 4. Sediment depth profiles of total aliphatic hydrocarbons (AHs), total *n*-alkanes, total polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), carbon preference index (CPI), terrestrial-aquatic ratio (TAR), UCM/total *n*-alkanes, and LMW/HMW (low molecular weight/high molecular weight) PAHs, for the PGA and ANT cores, and population growth of the Antonina, Morretes and Paranaguá urban areas (IBGE, 2014).

Levels of total AHs greater than $100 \mu\text{g.g}^{-1}$ were found almost in all sections of the ANT core, except in the 17-11 cm depth, which according to Volkman et al. (1992) is evidence of petroleum contamination, while there was probable chronic contamination ($>500 \mu\text{g.g}^{-1}$) between 4 and 6 cm. In the PGA core, the 14-19 cm section and the upper layers (until 10 cm) showed levels greater than $100 \mu\text{g.g}^{-1}$ and appeared to be contaminated by petroleum.

Among the short-chain *n*-alkanes ($\leq n\text{-C}_{20}$), *n*-C₁₇ was most abundant, particularly in the top sections (≤ 6 cm) (Fig. 5, Ia). In the case of the long-chain *n*-alkanes, the highest concentrations were obtained for *n*-C₂₉, especially in the top sections (≤ 6 cm) (Fig. 5, Ib).

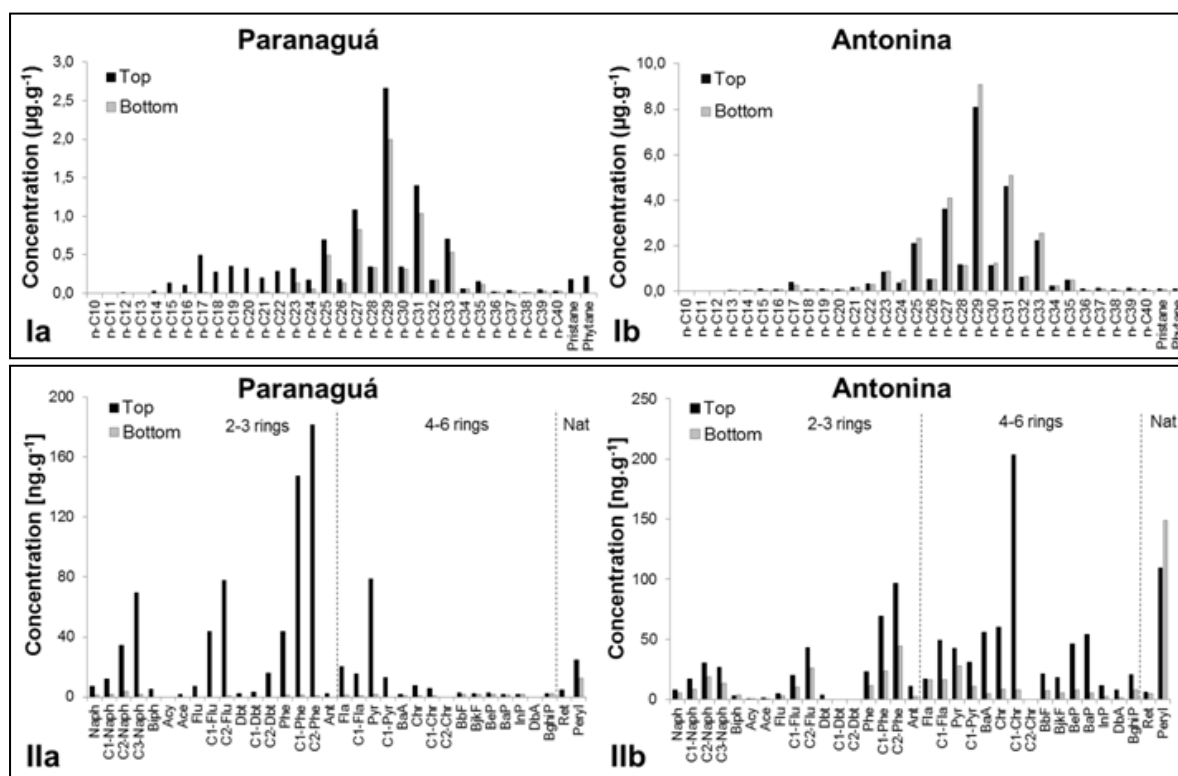


Fig. 5. Concentrations of individual *n*-alkanes (I) and PAHs (II) in the top (0-2 cm) and bottom (26–27 cm) sections of the PGA (a) and ANT (b) cores. Naph = naphthalene; C₁-Naph = C₁-naphthalene; C₂-Naph = C₂-naphthalene; C₃-Naph = C₃-naphthalene; Biph = biphenyl; Acy = acenaphthylene; Flu = fluorene; C₁-Flu = C₁-fluorene; C₂-Flu = C₂-fluorene; Dbt = dibenzothiophene; C₁-Dbt = C₁-dibenzothiophene; C₂-Dbt = C₂-dibenzothiophene; Phe = phenanthrene; C₁-Phe = C₁-phenanthrene; C₂-Phe = C₂-phenanthrene; Ant = anthracene; Fla = fluoranthene; C₁-Fla = C₁-fluoranthene; Pyr = pyrene; C₁-Pyr = C₁-pyrene; BaA = benz(a)anthracene; Chr = chrysene; C₁-Chr = C₁-chrysene; C₂-Chr = C₂-chrysene; BbF = benzo(b)fluoranthene; BjkF = benzo(j+k)fluoranthene; BeP = benzo(e)pyrene; BaP =

benzo(a)pyrene; InP = indeno(1,2,3-cd)pyrene; DbA = dibenz(a,h)anthracene; BghiP = benzo(ghi)perylene; Ret = retene; Peryl = perylene.

The highest concentration of total PAHs in the PGA core occurred in the top section (812.1 ng.g^{-1}), with a progressive decrease until 13 cm, except between 4 and 6 cm where PAH concentration was 481.4 ng.g^{-1} . Thereafter, there was an increase in PAH concentrations between 14 and 19 cm (mean value of $310.4 \pm 71.2 \text{ ng.g}^{-1}$) followed by a dramatic drop in concentrations (mean value of $21.4 \pm 5.2 \text{ ng.g}^{-1}$) in the deeper layers (Fig. 4 and Table 1). In the ANT core, the lowest concentrations of total PAHs were observed in the sections deeper than 7 cm (mean value of $210.6 \pm 44.4 \text{ ng.g}^{-1}$), while the surface sections showed the highest concentrations, with 718.0 ng.g^{-1} between 4 and 6 cm, and 1013.2 ng.g^{-1} in the top core section (Fig. 4; Table 1).

The sum of sixteen PAHs defined by USEPA as priority pollutants varied from 11.3 to 181.6 ng.g^{-1} ($73.9 \pm 53.7 \text{ ng.g}^{-1}$) in the PGA and from 74.4 to 359.8 ng.g^{-1} ($126.3 \pm 79.1 \text{ ng.g}^{-1}$) in the ANT. According to the National Oceanic and Atmospheric Administration's Screening Quick Reference Tables (NOAA SquiRT) (Buchman, 1999), the values found for the sixteen priority PAHs were below the threshold effects level (TEL) values, with the exception of dibenz(a,h)anthracene, for which the concentration in the top section of the ANT core (8.19 ng.g^{-1}) exceeded the TEL (6.22 ng.g^{-1}) (Fig. S1).

Low molecular weight PAHs (LMW: 2 to 3 aromatic rings) and high molecular weight PAHs (HMW: 4 to 6 aromatic rings) exhibited higher concentrations in the top layers of both cores (Fig. 5, IIa and IIb; Table 1).

The samples analyzed exhibited moderate concentrations of PAHs and relatively high values of AHs, compared to concentrations of hydrocarbons found in other tropical and subtropical estuaries, as discussed in the supplementary material.

4.3. Sources of hydrocarbons

Distinction between biogenic (aquatic or terrestrial) and anthropogenic (petrochemical) sources of the AHs found in marine sediments can be achieved using several indexes involving individual compounds and/or UCM. The carbon preference index (CPI₂₅₋₃₅ = $\frac{1}{2} * [(\sum \text{odd } C_{25}-C_{35})/(\sum \text{even } C_{24}-C_{34}) + (\sum \text{odd } C_{25}-C_{35})/(\sum \text{even } C_{26}-C_{36})]$) represents the relative distribution of odd and even number carbons in a sample. The CPI value for most oils and petroleum products is close to 1.0, while *n*-alkanes from the epicuticular wax in vascular plants have high CPI values that are generally between 2.0 and 12.0 (Wang et al., 2009; Andersson and Meyers, 2012). The CPI values for the PGA and ANT cores were higher than 4.0 (Fig. 4, Table S2), indicating a significant input of biogenic terrestrial organic matter.

The terrestrial-aquatic ratio (TAR) can be used to investigate domination by either vascular plants or phytoplankton (Bourbonniere et al., 1997). Lipids from the epicuticular waxes of vascular plants present high proportions of long-chain *n*-alkanes ($\geq n-C_{21}$), resulting in ratios >1.0, while ratio values <1.0 indicate algal and planktonic hydrocarbon inputs (Silliman and Schelske, 2003; Commendatore and Esteves, 2004). The high TAR values (Fig. 4, Table S2) and the predominance of the *n*-C₂₉ alkane (Fig. 5, Ia and Ib) suggested that in both cores, the terrestrial component was more important than marine contribution. The values for the ANT core were 3-fold higher than for the PGA core, indicating substantial riverine and mangrove forest inputs. The autochthonous organic matter contents as indicated by the short-chain *n*-alkanes, were similar for the two cores (Table 1). The TAR values were higher for the bottom sections of the PGA core (Fig. 4, Table S2), probably because of an absence of short-chain *n*-alkanes due to their progressive degradation with depth (Fig. 5, Ia and Ib). It is known that these compounds are more sensitive to microbial attack (Colombo et al., 2005).

The isoprenoid hydrocarbons, pristane and phytane are products of geologic alteration of phytol and other isoprenoidyl natural products, and are not primary constituents of most terrestrial biota (Peters and Moldowan, 1993). However, a high concentration of pristane alone can be derived from zooplankton (Blumer et al., 1963). In uncontaminated sediments, the pristane/phytane ratio is higher than 1, typically between 3 and 5 (Steinhauer and Boehm, 1992). The pristane/phytane ratio varied between 0.62 and 0.89 for the PGA core and between 0.75 and 1.09 for the ANT core (Table S2), suggesting petroleum inputs. The pristane/*n*-C₁₇ and phytane/*n*-C₁₈ ratios were in the ranges of 0.25-0.37 and 0.78-1.56, respectively, for the PGA core, and in the ranges of 0.16-0.30 and 0.62-1.58, respectively, for the ANT core (Table S2). These values suggest recent inputs, but the higher values found in the bottom sections confirmed the existence of degradation processes.

In general, the UCM/total *n*-alkanes values were higher for the PGA core than for the ANT core (Fig. 4), with values exceeding 10.0 (Table S2), which is indicative of chronic contamination or the presence of degraded oil (Tolosa et al., 2009). This could be related to the harbor activities near the towns of Paranaguá and Antonina. Higher values of this ratio were found in the middle to bottom sections of the PGA core, indicating a significant petrogenic input. Conversely, for the ANT core the highest values were found in the top sections.

Sources of PAHs in sediments can be assessed by studying the general environmental fingerprint and using several diagnostic ratios (e.g. Abreu-Mota et al., 2014; Yancheshmeh et al., 2014). Samples from the two cores showed a predominance of alkylated PAHs (56.6 ± 15.6%; Fig. 5, IIa and IIb), suggesting that petrogenic sources were most important (Wang et al., 1999), as corroborated by the ratio between low molecular weight and high molecular weight PAHs (Fig. 4, Table S3) (Wang et al., 1999; Charriau et al., 2009).

Isomer ratios of PAHs have been used to discriminate PAH sources (e.g. petroleum, coal, biomass or petroleum combustion) in estuarine environments, as described by Yunker et al. (2002). From the compositional distribution of the LMW isomers, the PAHs in the cores were predominantly derived from petroleum, mixed, and combustion sources (Table S3). However, the HMW diagnostic ratios suggested a predominance of mixed and pyrogenic sources, mainly associated with petroleum combustion (Fig. 6, Table S3). Despite the existence of different sources, results of the diagnostic ratio analyses, as well as the predominance of UCM, point to petrogenic sources, probably related to shipping and harbor operations, as being responsible for large amounts of petroleum hydrocarbons in the PES. In general, the PGA core presented PAHs from petrogenic origins, with a decreasing trend from the top to the bottom, whereas the ANT core contained PAHs from mixed sources, with pyrogenic origins at the surface and a marked increase in those resulting from petrogenic origins with increased core depth.

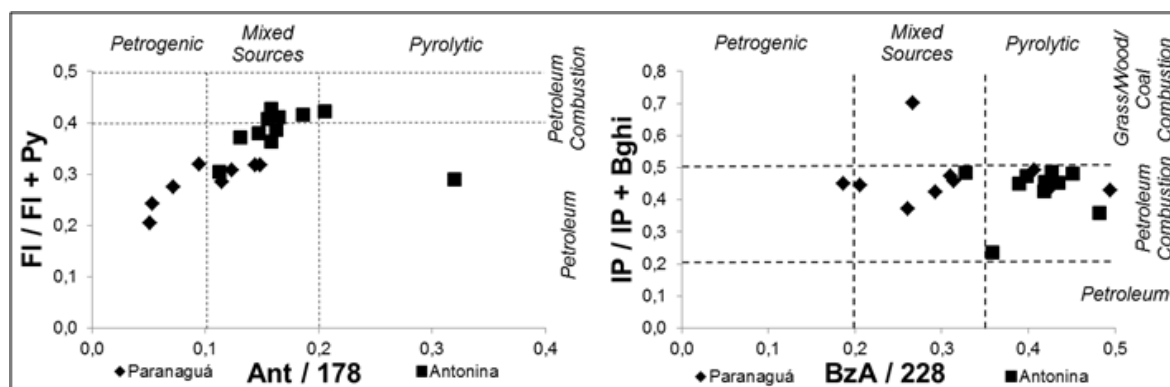


Fig. 6. PAH cross plots for the ratios of fluoranthene/fluoranthene + pyrene ($Fl/Fl+Py$) vs. anthracene/phenanthrene + anthracene ($An/178$), and indeno(1,2,3-cd)pyrene/indeno(1,2,3-cd)pyrene + benzo(ghi)perylene ($IP/IP+Bghi$) vs. benz(a)anthracene/benz(a)anthracene + chrysene ($BaA/228$), for sediments from the PGA and ANT cores.

Although the majority of PAHs are derived from anthropogenic sources, perylene can be associated with natural sources of organic matter (Venkatesan, 1988; Wilcke et al., 2002). In all samples, the concentrations of perylene exceeded 10% of the total pentacyclic isomer concentrations, with values ranging from 41.8 to 85.0% (Table 1), indicating a probable diagenetic origin (Nizzetto et al., 2008; Readman et al., 2002). The abundance of perylene in the ANT core could be explained by riverine inflows that transferred terrestrial organic material derived from mangrove forests, considered to be the main source of perylene precursors (Silliman et al., 1998).

4.4. Spectroscopic techniques

4.4.1 Electron paramagnetic resonance (EPR)

EPR spectra in a scanning range of 1000 - 4500 G (Fig. 7, Ia and Ib) and PCA (Fig. 8, a-c) were used to investigate the possibility of discrimination among the sediment samples.

PCA analysis of the 22 sediment samples, based on the EPR spectra, revealed distinct groupings (Fig. 8a). PC1 contained two main groups: (i) six samples from superficial layers of the PGA core (0-13 cm), and (ii) all samples from the ANT core (0-27 cm), together with middle-bottom sediments (14-27 cm) of the PGA core. PC2 and PC3 clearly distinguished samples from the ANT core of samples from PGA core. According to the PC1 loadings (Fig. 8, b and c) for spectra of the PGA samples (mainly 0-13 cm), a notable segregation was associated with the Mn^{2+} ion, characterized by a hyperfine structure of six lines, with a broad signal at around 3500 G (Lesven et al., 2010; Polak et al., 2011), and the Fe^{3+} ion in isolated domain, identified by a signal at around 1500 G. This pattern suggests that the sediments at the PGA site were more oxidized, compared to those at ANT. The broad line at 3500 G, which presented more features for the ANT core (Fig. 7, Ia and Ib), was indicative of a reduced environment (Mangrich et al., 2009). These lines are attributed to concentrated

domains involving dipole-dipole magnetic interaction between Fe^{3+} ion centers related to Fe^{3+} from oxides/hydroxides and clays (Fukamachi et al., 2007). Reduced environment could be associated to more polluted sites, as the input of organic contaminates increases the microbial activity (Mangrich et al., 2009).

4.4.2. Diffuse reflectance ultraviolet–visible spectroscopy (DRUV–VIS)

The UV-Vis spectra of the two cores analyzed are shown in Fig. 7 (IIa and IIb). At wavelengths shorter than 260 nm, ligand to metal charge transfers (LMCT), such as $\text{O}^{2-} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ (Fukamachi et al., 2007), were observed for all the samples studied.

Bands in the range 290-310 nm (${}^6\text{A1} \rightarrow {}^4\text{T1} ({}^4\text{P})$) could be assigned to goethite ($\alpha\text{-FeOOH}$) (Sherman and Waite, 1985). For the ANT core, the occurrence of goethite was reflected by bands in the region 360-380 nm (${}^6\text{A1} \rightarrow {}^4\text{E} ({}^4\text{D})$). In the case of the PGA core, the presence of ligand bands at 475 nm corresponding to the field transition of Fe^{3+} ions, $2({}^6\text{A1}) \rightarrow 2({}^4\text{T1} (4\text{G}))$ and ${}^6\text{A1} \rightarrow {}^4\text{E}, {}^4\text{A1} (4\text{G})$, could be attributed to hematite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). For the sections below 14 cm depth, the ANT sediments showed peaks with relatively low intensity, probably reflecting the reduction of goethite Fe^{3+} to Fe^{2+} .

4.4.3. Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS)

Spectra in the mid-infrared (MIR) region are shown in Fig. 7 (IIIa and IIIb). Samples from both sediment cores presented bands at 3680 cm^{-1} , typically related to the absorption band of kaolinite, and at 3620 cm^{-1} , corresponding to the absorptions of gibbsite and kaolinite (Russel and Fraser, 1994). Spectral bands observed for the PGA sediment at around 2239 cm^{-1} and 2131 cm^{-1} could be attributed to pure quartz. A further three characteristic bands of quartz (Si-O, at $2000, 1870, \text{ and } 1790 \text{ cm}^{-1}$; Nguyen et al., 1991) were observed for samples from the

PGA core. An additional band at around 525 cm^{-1} was also present, which was assigned to the vibration of Si-O-M, where M = Al or Fe (Grim, 1968).

The absorption band region of $1640\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$ has several assignments, including C=O of COO^- , stretching of aromatic C=C and C=O of amide groups, and N-H bending (Silverstein et al., 2005).

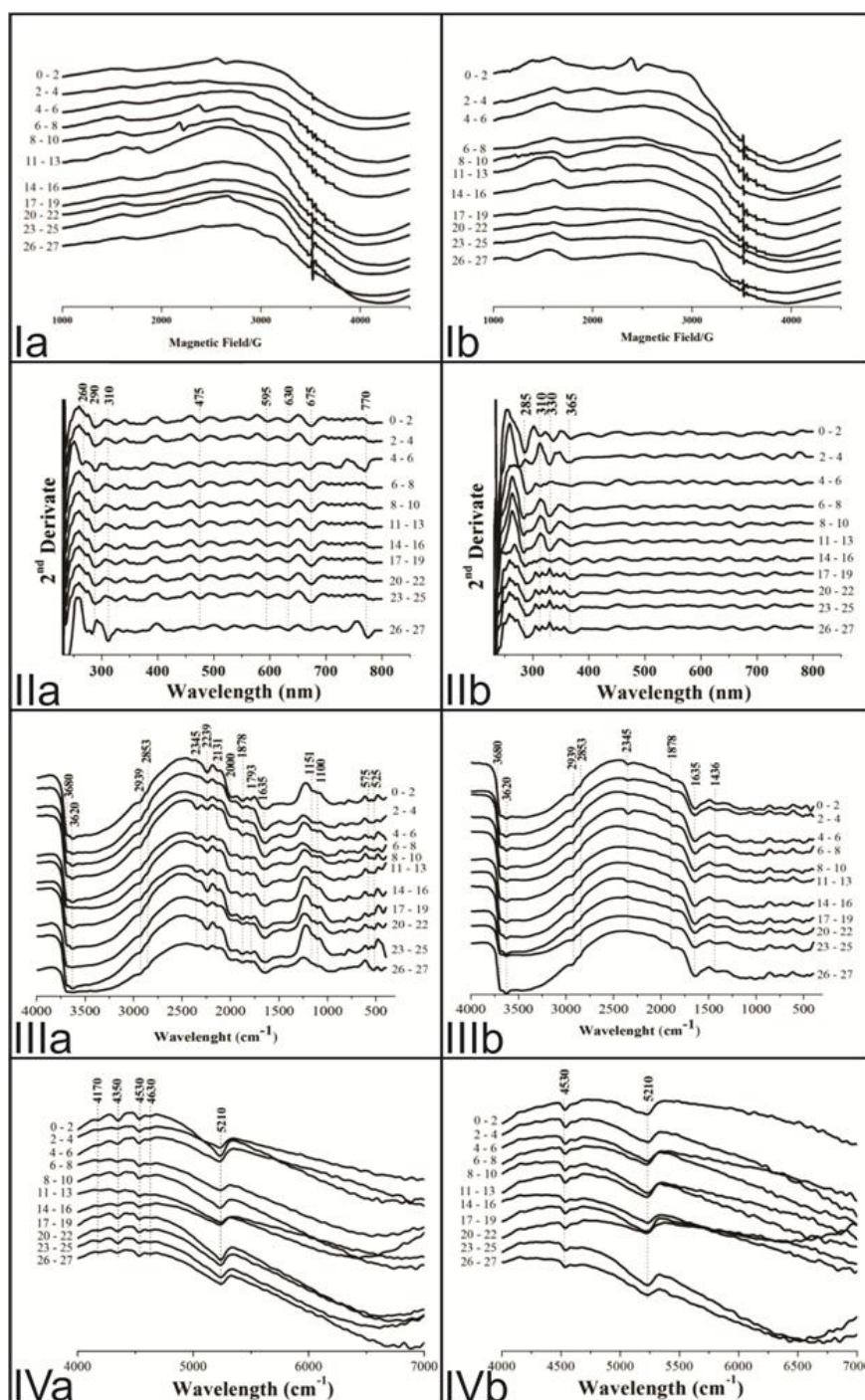


Fig. 7. Electron paramagnetic resonance (EPR) spectra (I), UV–Vis spectra (II), DRIFTS spectra in the mid-infrared region (III), and DRIFTS spectra in the near-infrared region (IV), for the PGA (a) and ANT (b) cores.

The PCA scores and loadings for the mid-infrared (400-4000 cm^{-1}) analyses are shown in Fig. 8 (d-f). As can be seen in Fig. 8d, there were differences between samples from the two cores (PC1 accounted by 95.4% of total variability), mainly associated with the absorption bands attributed to kaolinite and gibbsite (below around 3600 cm^{-1}).

Fig. 7 (IVa and IVb) shows the NIR spectra, with absorption bands in the region 5100-5200 cm^{-1} due to strains and deformations of OH groups and the second (3v) C=O group of carboxylic groups, primary amides, and ketones. Peaks near 2930 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$) and 2855 cm^{-1} ($-\text{CH}_2$) corresponded to alkyl stretching vibrations (Forrester et al., 2013). In the present case, absorptions were more evident near 4170 cm^{-1} , due to the absorption of the second overtone (3v) deformation of CH_3 , and at around 4350 cm^{-1} , assigned to the second overtone of C-H and CH_2 , which was more intense in the case of the PGA core (Fig. 7, IVa). These bands could be explained by the presence of TPHs from oil contamination (Forrester et al., 2013) associated with urban activities, including the harbor and industries located in the PES. However, a more accurate evaluation was not possible using DRIFTS, due to the low concentration range ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) of total AHs observed in this study.

All the sediment samples presented absorption peaks between 4500 and 4600 cm^{-1} attributed to the second overtone (3v) of aromatic ring C=C stretching, related to sedimentary organic matter (peaks at 4651 cm^{-1} and 4520 cm^{-1}) (Forrester et al., 2013). However, bands near 4500 cm^{-1} can also be characteristic of Al–OH bending and O–H stretching of clay minerals such as kaolinite and gibbsite (Verheyen et al., 2014).

To discriminate the two cores, PCA was also performed for the NIR data obtained in the 4000-4700 cm^{-1} region (Fig. 8, g and h). As apparent in Fig. 8g, samples from the two

different sites (PGA and ANT) were distinguished by PC1 (accounted by 99.9% of total variability). Despite this apparent separation, the bottom sections of the PGA core (17-27 cm) seemed to be quite similar to the top layers of the ANT core (0-10 cm).

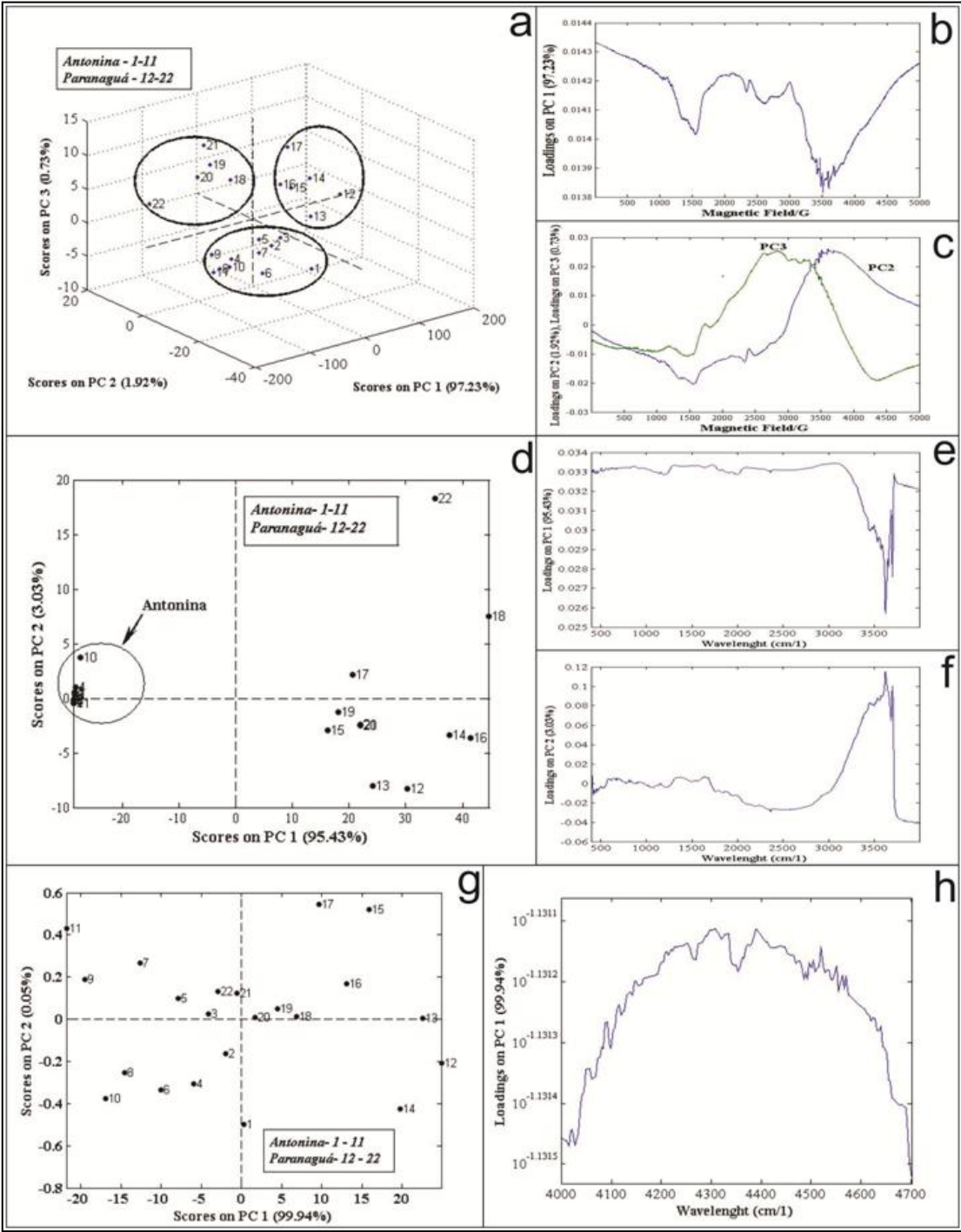


Fig. 8. Principal component analysis applied to the spectroscopic results. Scores (a) and loadings of PC1 (b) and PC2 and PC3 (c) for the EPR spectra. Scores (d) and loadings of PC1 (e) and PC2 (f) for the MIR DRIFTS spectra. Scores (g) and loadings of PC1 (h) for the NIR DRIFTS spectra.

4.5. Comparison among different techniques for sedimentary hydrocarbon assessment

Due to the simplicity, speed, and low cost of spectroscopic techniques, recent efforts have been made to use them as an alternative for the detection of TPHs (Chakraborty et al., 2010, 2014; Forrester et al., 2010, 2013; Okparanma and Mouazen, 2013; Schwartz et al., 2012) and PAHs (Okparanma et al., 2014).

Comparison of the NIR and LMW/HMW ratio results was, therefore, made in order to determine the ability of the combined use of spectroscopic and chromatographic techniques to evaluate oil contamination in the PES. Additionally, the UCM/total *n*-alkanes ratios indicated that the PGA sediment was affected by chronic contamination or by degraded oil residues. This was confirmed by the presence of alkyl groups identified by DRIFTS, a fast screening technique useful for the early detection of contamination. The coefficient index of kappa analysis performed, in most of the case was in the range of 0.5-0.6, indicating a fair to good agreement. For NIR vs UCM/total *n*-alkanes, the coefficient was 0.58, for NIR vs LMW/HMW, was 0.57, NIR vs Σ PAHs, was 0.61, NIR vs Alquil-PAHs was 0.50. The trends found in both approaches seemed to be in agreement with the scores found in the PCA analysis of the NIR spectra, with correlation between the compound ratios related to the chromatographic and spectroscopic methods, and petroleum contamination decreasing from the top to the bottom sections of the PGA and ANT cores (Fig. 4).

Application of the EPR technique revealed reduced environments in the ANT samples, which could have contributed to higher concentrations of AHs and PAHs in the ANT core (AHs: 92.5-722.6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; PAHs: 145.3-1013.2 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$) than in the PGA core (AHs: 20.4-190.8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; PAHs: 15.1-812.1 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$). The oxidation of high quantities of organic matter by the action of microorganisms can result in a more reduced environment. The kappa analysis was performed between EPR, AHs and PAHs to verify the agreement statement. From EPR data, PC2 (1.92 % of variability) was chosen to perform the statistic analysis, as its segregation is based on Fe^{+3} signal and Mn^{+2} , PC1 was discarded because ROL signal had high relevance for this component. The two methods chromatographic and spectroscopic presents fair to good agreement. For EPR vs AHs the kappa coefficient was 0.48, and for EPR vs PAHs was 0.70, considering HAPs above 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

4.6. Sedimentary record of hydrocarbon contamination in the PES

The history of economic development, territorial occupation, and population growth of the towns of Paranaguá and Antonina has closely paralleled the harbor activities (Godoy, 2002), and the changes in hydrocarbon concentrations over the period analyzed seemed to follow this trend, especially in the case of the PGA core (Fig. 4).

The lowest concentrations of total *n*-alkanes, AHs, and PAHs, found in the bottom sections of the PGA core, corresponded to the period between the 1910s and the 1930s (Fig. 4). At this time, the harbor activities were still incipient, and the Matarazzo Industrial Complex (the main industrial source during the period) was at the beginning of its development (APPA, 2014).

The total AHs and PAHs concentrations increased more than 10-fold after 1940, compared to previous years, with the highest total AHs concentrations (174.8 and 190.8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and the first peak concentration of total PAHs (381.6 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$) in the PGA core recorded in

the 1940s and 1950s (Fig. 4). The highest values of the UCM/total *n*-alkanes ratio (22.7 and 16.8) corresponded to the years 1940 and 1960, respectively, during the first phase of hydrocarbon inputs over the period analyzed. This initial phase of contamination could be attributed to the intensification of harbor and industrial activities in the area, marked by the official commencement of operation of the Paranaguá harbor, in its current location, in 1935. This was followed by improvements in the harbor facilities and access to the docks region, expansion of the Matarazzo Industrial Complex, and a strong human migration influx from this period onwards (APPA, 2014; Godoy, 2002).

The increase in employment opportunities promoted urban development, resulting in exponential population growth from 1940 onwards (Fig. 4) (Godoy, 2002). The increased anthropic pressure on the PES included deforestation, biomass burning, sewage and solid waste disposal, which provide an explanation for the progressive increase in total AHs and PAHs concentrations in the PGA core from the 1940s until the 1960s (Fig. 4).

The decreased hydrocarbon concentrations between the mid-1960s and mid-1980s can be attributed to an intensive dry period that occurred between April 1963 and January 1964 in the south-central region of Brazil, which was considered the worst drought of the century in the country. The lower precipitation was reflected in reduced riverine freshwater flows to the PES, as also indicated by the decrease in grain size (Table S1), resulting in much smaller inputs of hydrocarbons to the estuarine environment. The decreased hydrocarbon concentrations for this period could also have been associated with the global oil crisis between 1973 and the mid-1980s, which disrupted oil supplies and decreased industrial activities worldwide. Martins et al. (2011b) also reported decreased inputs of anthropogenic hydrocarbons to the Santos estuary, in the most industrialized area of South America, at the time of the global oil crisis.

From the year 2000 onwards, hydrocarbon concentrations in both cores increased up to the surface sections. The highest concentration of total AHs ($722.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and the second highest concentration of total PAHs ($718.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) measured in the ANT core corresponded to the period between 2002 and 2006. The UCM/total *n*-alkanes ratio was above 10.0 for this period, and a predominance of petrogenic sources over pyrogenic contributions was indicated by the LMW/HMW ratio (Fig. 4), suggesting petrogenic contamination. This marked increase in the presence of oil hydrocarbons could have been due to three oil spills that occurred in the PES. In September 2000, around $4,000 \text{ m}^3$ of diesel spilled from a train derailment in the city of Morretes, and in February 2001, another $4,000 \text{ m}^3$ of diesel was spilled in the same area, due to an oil pipeline rupture. Both spills entered the Nhundiaquara River, subsequently reaching Antonina bay (Albarello, 2012). The oil released by these accidents did not seem to have reached the region where the Paranaguá core was collected (approximately 20 km away from the ANT site). This is because there were no substantial changes in the PAHs concentration profile in the PGA core between 1991 and 2006 (Fig. 4).

A marked increase in the PAHs concentrations in the PGA core was related to the spill from the Chilean ship “Vicuña” in November 2004, considered the largest oil spill in the PES (APPA, 2014; IAP, 2005). Approximately 4,000 t of methanol and $1,400 \text{ m}^3$ of oil were released from this accident (IAP and FATMA, 2005). The contamination reached about 170 km of shoreline, including mangroves, salt marshes, and some ocean beach areas. The historical environmental record of this accident seemed to be clear in both cores. The highest levels of AHs and UCM, and the second highest level of PAHs in the ANT core were found between 2002 and 2006, similar to the trend obtained for the PGA core (Fig. 4).

The surface sections of both cores were characterized by higher hydrocarbon concentrations, which could have been related to the long-term effects of the Vicuña accident. However, surface sediment layers should be evaluated with caution, because they are subject

to constant changes in sedimentation and bioturbation (Martins et al., 2010b). There was intense rainfall in the study area in March 2011, with more than 500 mm of rainfall all in 48 hours, which is more than the normal amount recorded for an entire month during the rainy season (Pinto et al., 2012). These rains caused floods, severe landslides, and increased river flows, resulting in large inputs of terrigenous material to the PES. It has been suggested that the inputs of biogenic hydrocarbons from terrigenous sources, together with processes of resuspension from the estuarine floor that may have mixed the surface layers, could provide an explanation for the relatively high hydrocarbon concentrations in more recent periods (Pinto et al., 2012).

5. Conclusions

The sources and depositional history of hydrocarbons in the sediments of the PES, one of the largest estuaries in the SW Atlantic and one of the most important harbor areas of the South American coast, have been described on the basis of multiple analytical techniques. The two sediment cores studied revealed significant natural terrestrial inputs, in addition to anthropogenic sources. In general, the ANT core presented higher absolute concentrations of hydrocarbons than the PGA core, due mainly to the preferential depositional characteristics of the Antonina bay, related to high sedimentation rates and the proximity of a major riverine inflow. Higher concentrations in the PGA core were related to the harbor installation and urban and industrial development, while relatively lower levels could be attributed to the global oil crisis between 1970 and the late 1980s, as well as a severe dry season that occurred in the early 1960s. In the case of the ANT core, higher values in the surface sections could be explained by recent oil spills and high precipitation events.

The results of the EPR analyses indicated that in the core from the PGA site, the sections related to the period between 1968 and 2014 were more oxidized than the other

sections. The DRIFTS analyses indicated the presence of kaolinite, gibbsite, halite and quartz as constituents of the sedimentary matrix, providing information important for understanding the accumulation of organic compounds in the sediments. Quartz was predominant in the PGA core, and responsible for the intensity of the apparent oil contamination signal observed in the NIR analysis.

A historical trend was revealed from the combined results of the NIR analyses and the UCM/total *n*-alkanes ratios, which confirmed the effectiveness of these techniques for the detection of oil inputs to estuarine environments. The findings showed the value of using multiple and complementary techniques for the evaluation of environmental petroleum contamination.

Acknowledgements

C.C. Martins wishes to thank CNPq (Brazilian National Council for Scientific and Technological Development) for a research grant (448945/2014-2). The authors would like to thank Dr Marcelo Lamour and the staff of Laboratório de Estudos Morfodinâmicos e Sedimentológicos (CEM/UFPR) for assistance with the grain size analyses (supported by a grant from CAPES Pro-Equipamentos 2011). This work formed part of the interdisciplinary research conducted under the auspices of the Postgraduate Course in Estuarine and Ocean Systems (PGSISCO) of the Federal University of Paraná.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.XX.XXX>.

References

- Abril, J.M., 2003. Constraints on the use of ^{137}Cs as a time-marker to support CRS and SIT chronologies. *Environ. Pollut.* 129, 31-37.
- Aboul-Kassim, T.A.T., Simoneit, B.R.T., 1996. Lipid geochemistry of surficial sediments from the coastal environment of Egypt. I. Aliphatic hydrocarbons-characterization and sources. *Mar. Chem.* 54, 135–158.
- Abreu-Mota, M.A., Barboza, C.A. de M., Bicego, M.C., Martins, C.C., 2014. Sedimentary biomarkers along a contamination gradient in a human-impacted sub-estuary in Southern Brazil: A multi-parameter approach based on spatial and seasonal variability. *Chemosphere* 103, 156–63.
- Andersson, R.A., Meyers, P.A., 2012. Effect of climate change on delivery and degradation of lipid biomarkers in a Holocene peat sequence in the Eastern European Russian Arctic. *Org. Geochem.* 53, 63–72.
- APPA, A. dos P. de P. e A., 2014. http://www.portosdoparana.pr.gov.br/modules/consultas_externas/index.php?cod=3 [WWW Document].
- Bourbonniere, R.A., Telford, S.L., Ziolkowski, A., Lee, J., Evans, M.S., Meyers, P.A., 1997. Biogeochemical marker profiles in cores of dated sediments from large North American lakes., in: Eganhouse, R.P. (Ed.), *Molecular Markers in Environmental Geochemistry*. American Chemical Society, pp. 133–150.
- Buchman, M.F., 1999. NOAA screening quick reference tables. NOAA Hazmat Rep. 99, 12.
- Chakraborty, S., Weindorf, D.C., Li, B., Ali, M.N., Majumdar, K., Ray, D.P., 2014. Analysis of petroleum contaminated soils by spectral modeling and pure response profile recovery of n-hexane. *Environ. Pollut.* 190, 10–8.
- Chakraborty, S., Weindorf, D.C., Morgan, C.L.S., Ge, Y., Galbraith, J.M., Li, B., Kahlon, C.S., 2010. Rapid Identification of Oil-Contaminated Soils Using Visible Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy. *J. Environ. Qual.* 39, 1378.
- Charriau, A., Bodineau, L., Ouddane, B., Fischer, J.-C., 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbons and n-alkanes in sediments of the Upper Scheldt River Basin: contamination levels and source apportionment. *J. Environ. Monit.* 11, 1086–93.
- Choueri, R.B., Cesar, A., Torres, R.J., Abessa, D.M.S., Morais, R.D., Pereira, C.D.S., Nascimento, M.R.L., Mozeto, A.A., Riba, I., DelValls, T.A., 2009. Integrated sediment quality assessment in Paranaguá Estuarine System, Southern Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 1824–31.
- Colombo, J.C., Barreda, A., Bilos, C., Cappelletti, N., Migoya, M.C., Skorupka, C., 2005. Oil spill in the Rio de la Plata estuary, Argentina: 2-Hydrocarbon disappearance rates in sediments and soils. *Environ. Pollut.* 134, 267–76.

- Commendatore, M.G., Esteves, J.L., 2004. Natural and anthropogenic hydrocarbons in sediments from the Chubut River (Patagonia, Argentina). *Mar. Pollut. Bull.* 48, 910–8.
- Folk, R., Ward, W., 1957. Brazos river bar: A study in the significance of grain size parameters. *J. Sediment. Petrol.* 27, 3–27.
- Forrester, S., Janik, L., McLaughlin, M., 2010. An infrared spectroscopic test for total petroleum hydrocarbon (TPH) contamination in soils, in: 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World. Published on DVD, Brisbane, Australia, pp. 13–16.
- Forrester, S.T., Janik, L.J., McLaughlin, M.J., Soriano-Disla, J.M., Stewart, R., Dearman, B., 2013. Total Petroleum Hydrocarbon Concentration Prediction in Soils Using Diffuse Reflectance Infrared Spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 77, 450–460.
- Fukamachi, C.R.B., Wypych, F., Mangrich, A.S., 2007. Use of Fe³⁺ ion probe to study the stability of urea-intercalated kaolinite by electron paramagnetic resonance. *J. Colloid Interface Sci.* 313, 537–541.
- Godoy, A.M.G., 2002. Os impactos sócio econômicos das transformações no sistema portuário, in: Raynaut, C., Zanoni, M., Lana, P.C., Floriani, D., Ferreira, A.D.D., Andriguetto Filho, J.M. (Eds.), *Desenvolvimento E Meio Ambiente: Em Busca Da Interdisciplinaridade*. pp. 43–62.
- Gogou, A., Bouloubassi, I., Stephanou, E.G., 2000. Marine organic geochemistry of the eastern Mediterranean: 1. Aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in Cretan Sea surficial sediments. *Mar. Chem.* 68, 265–282.
- Grim, R.E., 1968. Clay Mineralogy, in: Jasmund, K. (Ed.), *Die Silicatischen Tonminerale*.
- Hites, R.A., Laflamme, R.E., Farrington, J.W., 1977. Sedimentary polycyclic aromatic hydrocarbons – the historical record. *Science* (80-). 198, 829–831.
- Hostettler, F.D., Pereira, W.E., Kvenvolden, K.A., Van Geek, A., Luoma, S.N., Fuller, C.C., Anima, R.J., 1999. A record of hydrocarbon input to San Francisco Bay as traced by biomarker profiles in surface sediment and sediment cores. *Mar. Chem.* 64, 115–127.
- IAP, I.A. do P., FATMA, F. do M.A., 2005. Relatório técnico sobre o acidente ambiental do Navio Vicuña ocorrido na Baía de Paranaguá em 15/11/2004.
- IBGE, 2014. Systematic Survey of Agricultural Production. Brazilian Institute of Geography and Statistics [WWW Document]. URL <http://www.ibge.gov.br>
- Lana, P. da C., Marone, E., Lopes, R.M., Machado, E. da C., 2001. The subtropical Estuarine Complex of Paranaguá Bay, Brazil. *Ecol. Stud.* 14, 131–145.
- Lesven, L., Louriño-Cabana, B., Billon, G., Récourt, P., Ouddane, B., Mikkelsen, Ø., Boughriet, A.H., 2010. On metal diagenesis in contaminated sediments of the Deûle river (northern France). *Appl. Geochemistry* 25, 1361–1373.

- Liebzeit, G., Brepohl, D., Rizzi, J., Guebert, F., Krome, M., Machado, E.C., Pijanowsa, U., 2011. DDT in biota of Paranaguá Bay, Southern Brazil: Recent input and rapid degradation. *Water, Air Soil Pollut.* 220, 181–188.
- Mangrich, A.S., Silva, L., Pereira, B.F., Messerschmidt, I., 2009. Proposal of an EPR Based Method for Pollution Level Monitoring in Mangrove Sediments. *J. Brazilian Chem. Soc.* 20, 294–298.
- Marone, E., Machado, E.C., Lopes, R.M., Silva, E.T. da, 2005. Land-ocean fluxes in the Paranaguá Bay estuarine system, southern. Brazilian. *J. Oceanogr.* 53, 169–181.
- Martins, C.C., Bicego, M.C., Mahiques, M.M., Figueira, R.C.L., Tessler, M.G., Montone, R.C., 2010a. Depositional history of sedimentary linear alkylbenzenes (LABs) in a large South American industrial coastal area (Santos Estuary, Southeastern Brazil). *Environ. Pollut.* 158, 3355–3364.
- Martins, C.C., Bicego, M.C., Mahiques, M.M., Figueira, R.C.L., Tessler, M.G., Montone, R.C., 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a large South American industrial coastal area (Santos Estuary, Southeastern Brazil): sources and depositional history. *Mar. Pollut. Bull.* 63, 452–8.
- Martins, C.C., Braun, J.A.F., Seyffert, B.H., Machado, E. da C., Fillmann, G., 2010b. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil). *Mar. Pollut. Bull.* 60, 2137–2143.
- Morel, G., Samhan, O., Literathy, P., Al-Hashash, H., Moulin, L., Saeed, T., Al-Matrouk, K., Martin-Bouyer, M., Saber, A., Paturel, L., Jarosz, J., Vial, M., Combet, E., Fachinger, C., Suptil, J., 1991. Evaluation of chromatographic and spectroscopic methods for the analysis of petroleum-derived compounds in the environment. *Anal. Bioanal. Chem.* 339, 699–715.
- Nguyen, T.T., Janik, L.J., Raupach, M., 1991. Diffuse reflectance infrared fourier transform (DRIFT) spectroscopy in soil studies. *Aust. J. Soil Res.* 29, 49–67.
- Nicolini, J., Pereira, B.F., Pillon, C.N., Machado, V.G., Lopes, W.A., Andrade, J.B. De, Mangrich, A.S., 2011. Characterization of Brazilian oil shale byproducts planned for use as soil conditioners for food and agro-energy production. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 90, 112–117.
- Nizzetto, L., Lohmann, R., Gioia, R., Jahnke, A., Temme, C., Dachs, J., Herckes, P., Di Guardo, A., Jones, K.C., 2008. PAHs in air and seawater along a North-South Atlantic transect: trends, processes and possible sources. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1580–5.
- Okparanma, R.N., Coulon, F., Mouazen, A.M., 2014. Analysis of petroleum-contaminated soils by diffuse reflectance spectroscopy and sequential ultrasonic solvent extraction-gas chromatography. *Environ. Pollut.* 184, 298–305.

- Okparanma, R.N., Mouazen, A.M., 2013a. Combined effects of oil concentration, clay and moisture contents on diffuse reflectance spectra of diesel-contaminated soils. *Water, Air Soil Pollut.* 224.
- Okparanma, R.N., Mouazen, A.M., 2013b. Visible and near-infrared spectroscopy analysis of a polycyclic aromatic hydrocarbon in soils. *Sci. World J.*
- Pasquini, C., 2003. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *J. Braz. Chem. Soc.* 14, 198–219.
- Pereira, W.E., Hostettler, F.D., Luoma, S.N., Van Geek, A., Fuller, C.C., Anima, R.J., 1999. Sedimentary record of anthropogenic and biogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in San Francisco Bay, California. *Mar. Chem.* 64, 99–113.
- Pinto, R.C., Passos, E., Caneparo, S.C., 2012. Classificação dos movimentos de massa ocorridos em março de 2011 na Serra da Prata, Estado do Paraná. *Geoinf. 4*, 3–27.
- Polak, Justyna, Bartoszek, M., Ządło, M., Kos, A., Sułkowski, W.W., 2011. The spectroscopic studies of humic acid extracted from sediment collected at different seasons. *Chemosphere* 84, 1548–1555.
- Readman, J.W., Fillmann, G., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J. P., Catinni, C., Mee, L.D., 2002. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 44, 48–62.
- Russel, J.D., Fraser, A.R., 1994. Infrared Methods, in: Wilson, M.J. (Ed.), *Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods*. Chapman & Hall, London, pp. 11–67.
- Schwartz, G., Ben-Dor, E., Eshel, G., 2012. Quantitative Analysis of Total Petroleum Hydrocarbons in Soils: Comparison between Reflectance Spectroscopy and Solvent Extraction by 3 Certified Laboratories. *Appl. Environ. Soil Sci.* 2012, 1–11.
- Sherman, D.M., Waite, T.D., 1985. Electronic spectra of Fe³⁺ oxides and oxide hydroxides in the near IR to near UV. *Am. Mineral.* 70, 1262–1269.
- Silliman, J.E., Meyers, P. a., Eadie, B.J., 1998. Perylene: an indicator of alteration processes or precursor materials? *Org. Geochem.* 29, 1737–1744.
- Silliman, J.E., Schelske, C.L., 2003. Saturated hydrocarbons in the sediments of Lake Apopka, Florida. *Org. Geochem.* 34, 253–260.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J., 2007. *Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos*, 7th ed. LTC, Rio de Janeiro.
- Tolosa, I., Mesa-Albernas, M., Alonso-Hernandez, C.M., 2009. Inputs and sources of hydrocarbons in sediments from Cienfuegos bay, Cuba. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1624–1634.

- Venkatesan, M.I., 1988. Occurrence and possible sources of perylene in marine sediments - a Review. *Mar. Chem.* 25, 1–27.
- Venturini, N., Muniz, P., Bicego, M.C., Martins, C.C., Tommasi, L.R., 2008. Petroleum contamination impact on macrobenthic communities under the influence of an oil refinery: Integrating chemical and biological multivariate data. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 78, 457–467.
- Verheyen, D., Diels, J., Kissi, E., Poesen, J., 2014. The use of visible and near-infrared reflectance measurements for identifying the source of suspended sediment in rivers and comparison with geochemical fingerprinting. *J. Soils Sediments* 14, 1869–1885.
- Volkman, J.K., Holdsworth, D.G., Neill, G.P., Bavor-Jr, H.J., 1992. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *Sci. Total Environ.* 112, 203–19.
- Wang, Z., Fingas, M., Page, D.S., 1999. Oil spill identification. *J. Chromatogr. A* 843, 369–411.
- Wang, Z., Yang, C., Kelly-Hooper, F., Hollebhone, B.P., Peng, X., Brown, C.E., Landriault, M., Sun, J., Yang, Z., 2009. Forensic differentiation of biogenic organic compounds from petroleum hydrocarbons in biogenic and petrogenic compounds cross-contaminated soils and sediments. *J. Chromatogr. A* 1216, 1174–91.
- Wilcke, W., Krauss, M., Amelung, W., 2002. Carbon isotope signature of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): evidence for different sources in tropical and temperate environments? *Environ. Sci. Technol.* 36, 3530–3535.
- Yancheshmeh, R.A., Bakhtiari, A.R., Mortazavi, S., Savabieasfahani, M., 2014. Sediment PAH: contrasting levels in the Caspian Sea and Anzali Wetland. *Mar. Pollut. Bull.* 84, 391–400.
- Yunker, M.B., Macdonald, R.W., Vingarzan, R., Mitchell, R.H., Goyette, D., Sylvestre, S., 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Org. Geochem.* 33, 489–515.

1 **Coupling spectroscopic and chromatographic techniques to the evaluation of the**
2 **depositional history of hydrocarbons in a subtropical estuary**

3

4 * César C. Martins, Wellington C. Gallice, Ana Caroline Cabral, Ana Lúcia L. Dauner, Marta
5 E. Doumer, Fernanda D. Cardoso, Natiely N. Dolci, Luana M. Camargo, Paulo A. L. Ferreira,
6 Rubens C. L. Figueira and Antonio S. Mangrich

7

8 * Corresponding author: ccmart@ufpr.br; phone/fax: +55 41 35118637

9

10 **Appendix A. Supplementary information**

11

12 **Material and Methods**

13 *1. Determination of sediment particle size*

14 Grain size distributions were measured by laser granulometry, in the size range
15 between 0.02 and 2000 μm , using a Microtrac Bluewave S3500 instrument. For these
16 analyses, 1.0 g of each dry sediment sample was treated sequentially with 10% hydrogen
17 peroxide and 10% hydrochloric acid, in order to remove organic matter and carbonates,
18 respectively. Small aliquots of this treated material were taken from the previously shaken
19 bottles and repeatedly injected into the dispersion module of the analyzer. The method
20 described by Folk and Ward (1957) was used to estimate the sediment parameters, using the
21 R-rysgan software package (Gilbert et al., 2012).

22

23

24

25

26 **Results and Discussion**

27 *1. Sediment particle size*

28 The grain size results are given in Table S1. The samples were sorted into two grain
29 size classes, corresponding to cohesive (<0.625 mm) and non-cohesive (>0.625 mm)
30 sediments. The sediment composition varied according to the sampling site. In the PGA core,
31 the sand fraction was predominant (68-92% of the total), while the ANT core showed sections
32 where silt predominated (such as sections 17-19 cm and 26-27 cm, with 78% and 77% silt
33 contents, respectively). The higher silt content of the ANT core was indicative of a lower
34 energy environment that favored sediment deposition (van Rijn, 1993). In the years 1960 and
35 1980, the grain size of the particles decreased in both cores, indicative of lower energy
36 conditions in those years, probably due to decreased riverine inflows.

37

38 *2. Hydrocarbons concentrations in sediments from different study areas worldwide.*

39 The total AHs concentrations found in the present study were higher than for a coastal
40 industrial area in the west Atlantic (Todos os Santos bay, Brazil), where values of between
41 0.33 and 18.69 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ were found (Wagener et al., 2010). Concentrations of 0.02-16.84 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
42 were reported for a tropical estuary in Nigeria (Oyo-lta et al., 2010), and values between 6.5
43 and 26.6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ were found in an urbanized region of the Tyne estuary, UK (Ahad et al.,
44 2011). Values in the range of 27.8-139.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ were reported for the tropical Mundaú-
45 Manguaba estuarine lagoon system in Brazil, which is in an urbanized area with industrial
46 activities (Silva et al., 2013).

47 Total PAHs concentrations were higher than levels found in an urbanized area of the
48 Gulf of Thailand (80 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$; Boonyatumanond et al., 2007), and in relative pristine areas such
49 as Laranjeiras bay, PES, Brazil (3.85-89.2 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$; Martins et al., 2012) and Ubatuba bay, SW
50 Atlantic (0.16-18.3 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$; Muniz et al., 2006). PAHs concentrations in the PGA and ANT

51 cores were comparable to levels found in industrial areas, such as Todos os Santos bay, Brazil
52 (42-4187 ng.g⁻¹; Wagener et al., 2010) and the Klang Strait, Malaysia (100.3-3446.9 ng.g⁻¹;
53 Sany et al., 2014).

54
55 **References**

- 56
57 Ahad, J., Ganeshram, R.S., Bryant, C., Cisneros-Dozel, L., Ascough, P., Fallick, A., Slater,
58 G., 2011. Sources of *n*-alkanes in an urbanized estuary: Insights from molecular
59 distributions and compound-specific stable and radiocarbon isotopes. *Mar. Chem.* 126,
60 239–249.
- 61 Boonyatumanond, R., Wattayakorn, G., Amano, A., Inouchi, Y., Takada, H., 2007.
62 Reconstruction of pollution history of organic contaminants in the upper Gulf of
63 Thailand by using sediment cores: First report from Tropical Asia Core (TACO)
64 project. *Mar. Pollut. Bull.* 54, 554–556.
- 65 Folk, R., Ward, W., 1957. Brazos river bar: A study in the significance of grain size
66 parameters. *J. Sediment. Petrol.* 27, 3–27.
- 67 Gilbert, E.R., Camargo, M.G., Sandrini-Neto, L., 2012. Grain size analysis, textural
68 classifications and distribution of unconsolidated sediments.
- 69 Muniz, P., Pires-Vanin, A.M.S., Martins, C.C., Montone, R.C., Bicego, M.C., 2006. Trace
70 metals and organic compounds in the benthic environment of a subtropical embayment
71 (Ubatuba Bay, Brazil). *Mar. Pollut. Bull.* 52, 1098–1105.
- 72 Oyo-lta, O.E., Ekpo, B.O., Oros, D.R., Simoneit, B.R.T., 2010. Distribution and sources of
73 aliphatic hydrocarbons and ketones in surface sediments from the Cross River estuary,
74 S.E. Niger Delta, Nigeria. *J. Appl. Sci. Environ. Sanit.* 5, 13–24.
- 75 Sany, S.B.T., Hashim, R., Salleh, A., Rezayi, M., Mehdinia, A., Safari, O., 2014. Polycyclic
76 aromatic hydrocarbons in coastal sediment of Klang Strait, Malaysia: Distribution
77 pattern, risk assessment and sources. *PLoS One* 9, 1–14.
- 78 Silva, T.R., Lopes, S.R.P., Spörl, G., Knoppers, B.A., Azevedo, D.A., 2013. Evaluation of
79 anthropogenic inputs of hydrocarbons in sediment cores from a Brazilian tropical
80 estuarine system. *Microchem. J.* 109, 178–188.
- 81 Van Rijn, L.C., 1993. Principles of sediment transport in rivers, estuaries and coastal seas.
82 Aqua Publications, Amsterdam.
- 83 Wagener, A.L.R., Hamacher, C., Farias, C., Godoy, J.M., Scofield, A.L., 2010. Evaluation of
84 tools to identify hydrocarbon sources in recent and historical sediments of a tropical
85 bay. *Mar. Chem.* 121, 67–79.

86
87

88
89
90
91
92
93

Table SM1. Aliphatic hydrocarbons parameters from sediment core samples collected in PES, SW Atlantic. CPI = Carbon Preference Index; TAR = Terrestrial Aquatic Ratio; UCM = Unresolved Complex Mixture; Pr = pristane; Phy = phytane; Pr/Phy = Pristane/Phytane ratio, Pr/*n*-C₁₇ = Pristane/ *n*-C₁₇ ratio, Phy/*n*-C₁₈ = Phytane/ *n*-C₁₈ ratio.

Core	Section [cm]	CPI	TAR	UCM/ Total <i>n</i> - alkane	Pr/Phy	Pr/ <i>n</i> -C ₁₇	Phy/ <i>n</i> -C ₁₈
PGA	0-2	5.66	5.22	11.2	0.82	0.36	0.78
	2-4	6.08	13.5	5.47	0.89	0.37	0.92
	4-6	5.55	7.63	13.2	0.70	0.35	1.17
	6-8	5.79	10.5	10.7	0.77	0.34	1.27
	8-10	5.72	15.7	8.54	0.70	0.25	1.56
	11-13	5.78	19.3	7.84	0.87	0.28	1.27
	14-16	4.76	6.86	16.8	0.62	0.28	1.40
	17-19	4.33	7.07	22.7	0.66	0.25	0.91
	20-22	5.56	13.9	1.86	nc ^{a,b}	nc ^a	nc ^{b,c}
	23-25	4.82	104.7	1.79	nc ^{a,b}	nc ^a	nc ^{b,c}
	26-27	4.80	214.2	2.18	nc ^{a,b}	nc ^a	nc ^{b,c}
ANT	0-2	5.50	26.4	5.52	1.09	0.28	1.44
	2-4	6.14	50.7	2.84	0.76	0.17	1.10
	4-6	5.46	20.5	15.1	0.75	0.30	1.58
	6-8	5.92	68.2	2.23	0.91	0.16	0.91
	8-10	5.69	59.1	2.24	0.79	0.16	0.98
	11-13	5.95	50.3	2.75	0.83	0.20	1.23
	14-16	5.54	50.9	2.74	1.06	0.21	0.96
	17-19	5.61	70.3	1.64	0.90	0.16	0.62
	20-22	5.55	97.4	1.64	1.00	0.17	0.62
	23-25	5.68	58.6	1.85	0.93	0.20	0.69
	26-27	5.91	43.8	5.09	0.78	0.28	1.16

94
95
96
97
98

nc^a = not calculated; pristane < DL

nc^b = not calculated; phytane < DL

nc^c = not calculated; *n*-C₁₈ < DL

99
 100
 101
 102
 103
 104
 105
 106
 107

Table SM2. Polycyclic aromatic hydrocarbons diagnostic ratios from samples collected in PES, SW Atlantic. LMW/HMW (P) = low molecular weight/high molecular weight ratio based on parental PAHs; LMW/HMW (P+A) = low molecular weight/high molecular weight ratio based on parental and alkylated PAHs; Ant/178 = anthracene/ anthracene + phenanthrene; Fl/Fl+Py = fluoranthene/ fluoranthene + pyrene; BzA/228 = benz(a)anthracene/ benz(a)anthracene + chrysene; IP/IP+Bghi = indeno(1,2,3-cd)pyrene/ indeno(1,2,3-cd)pyrene + benzo(ghi)perylene).

Core	Section [cm]	LMW/HMW (P)	LMW/HMW (P+A)	Ant/178	Fl/Fl+Py	BzA/228	IP/IP+Bghi
PGA	0-2	0.57	4.21	0.05	0.20	0.21	0.45
	2-4	0.46	3.31	0.05	0.24	0.26	0.37
	4-6	0.35	2.37	0.09	0.32	0.41	0.49
	6-8	0.46	2.98	0.07	0.27	0.31	0.46
	8-10	0.41	2.34	0.11	0.28	0.31	0.47
	11-13	0.56	2.42	0.15	0.32	0.29	0.42
	14-16	0.40	2.40	0.14	0.32	0.19	0.45
	17-19	0.48	2.97	0.12	0.31	0.27	0.70
	20-22	0.16	0.45	nc ^a	0.47	0.49	0.43
	23-25	0.19	0.80	nc ^a	0.41	0.42	0.43
	26-27	0.69	1.10	nc ^a	0.46	nc ^b	nc ^{c,d}
ANT	0-2	0.15	0.55	0.32	0.29	0.48	0.36
	2-4	0.25	0.89	0.19	0.42	0.43	0.49
	4-6	0.40	2.25	0.11	0.30	0.33	0.48
	6-8	0.24	1.05	0.15	0.38	0.39	0.45
	8-10	0.20	0.74	0.16	0.41	0.40	0.47
	11-13	0.28	1.08	0.21	0.42	0.42	0.46
	14-16	0.33	1.15	0.16	0.39	0.42	0.45
	17-19	0.30	1.13	0.13	0.37	0.42	0.43
	20-22	0.26	0.86	0.16	0.41	0.43	0.45
	23-25	0.28	0.95	0.16	0.43	0.45	0.48
	26-27	0.29	1.31	0.16	0.36	0.36	0.24

108
 109
 110
 111
 112
 113
 114
 115
 116
 117
 118

nc^a = not calculated; anthracene < DL

nc^b = not calculated; benz(a)anthracene < DL

nc^c = not calculated; indeno(1,2,3-cd)pyrene < DL

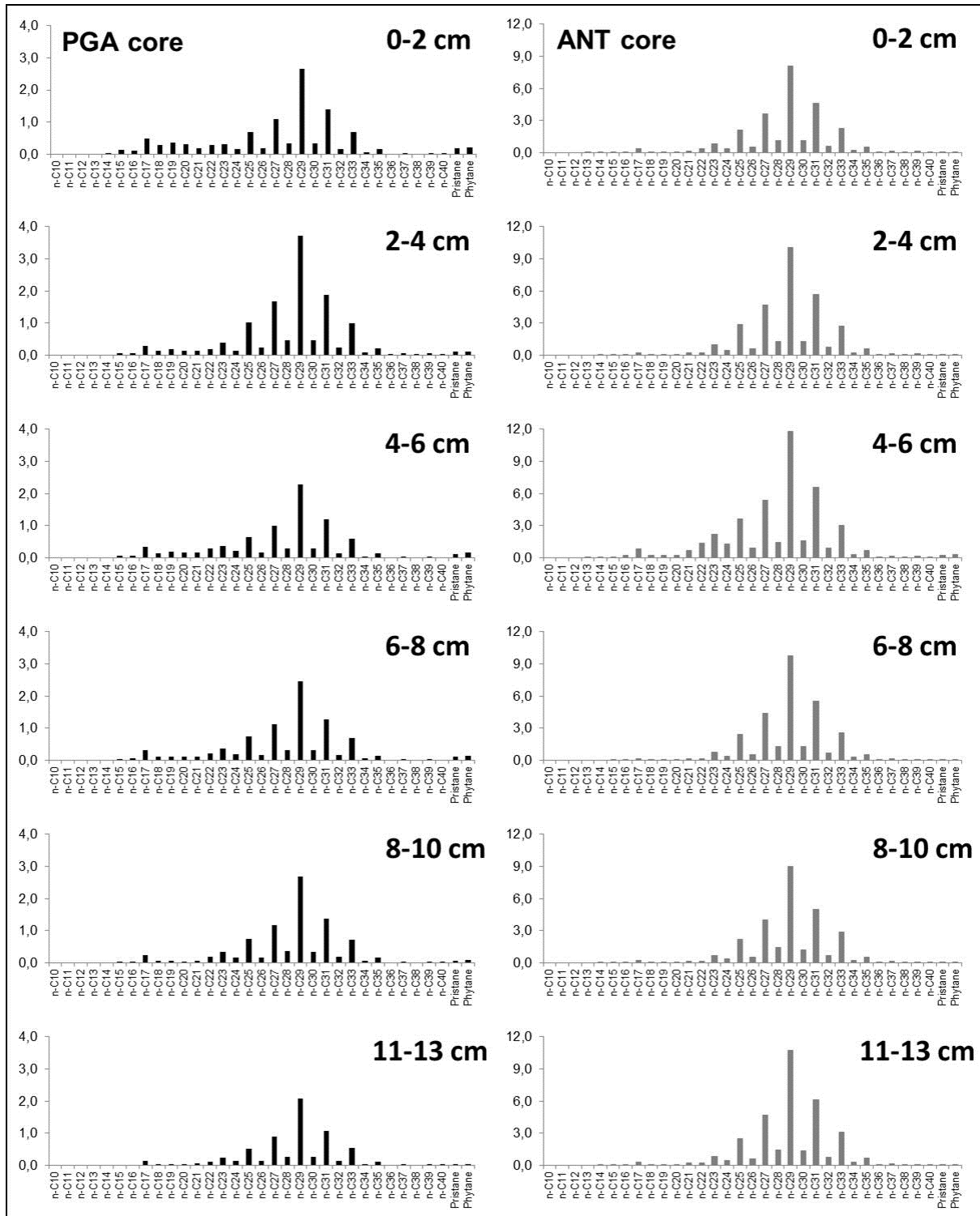
nc^d = not calculated; benzo(ghi)perylene < DL

119 **Table SM3.** Grain size and related parameters from samples collected in PES, SW Atlantic.
 120 FS: fine sand; VFS: very fine sand; MS: medium silt; PS: poorly sorted; Pk: platykurtic
 121 distribution; Mk: mesokurtic distribution; Lk: leptokurtic distribution.
 122

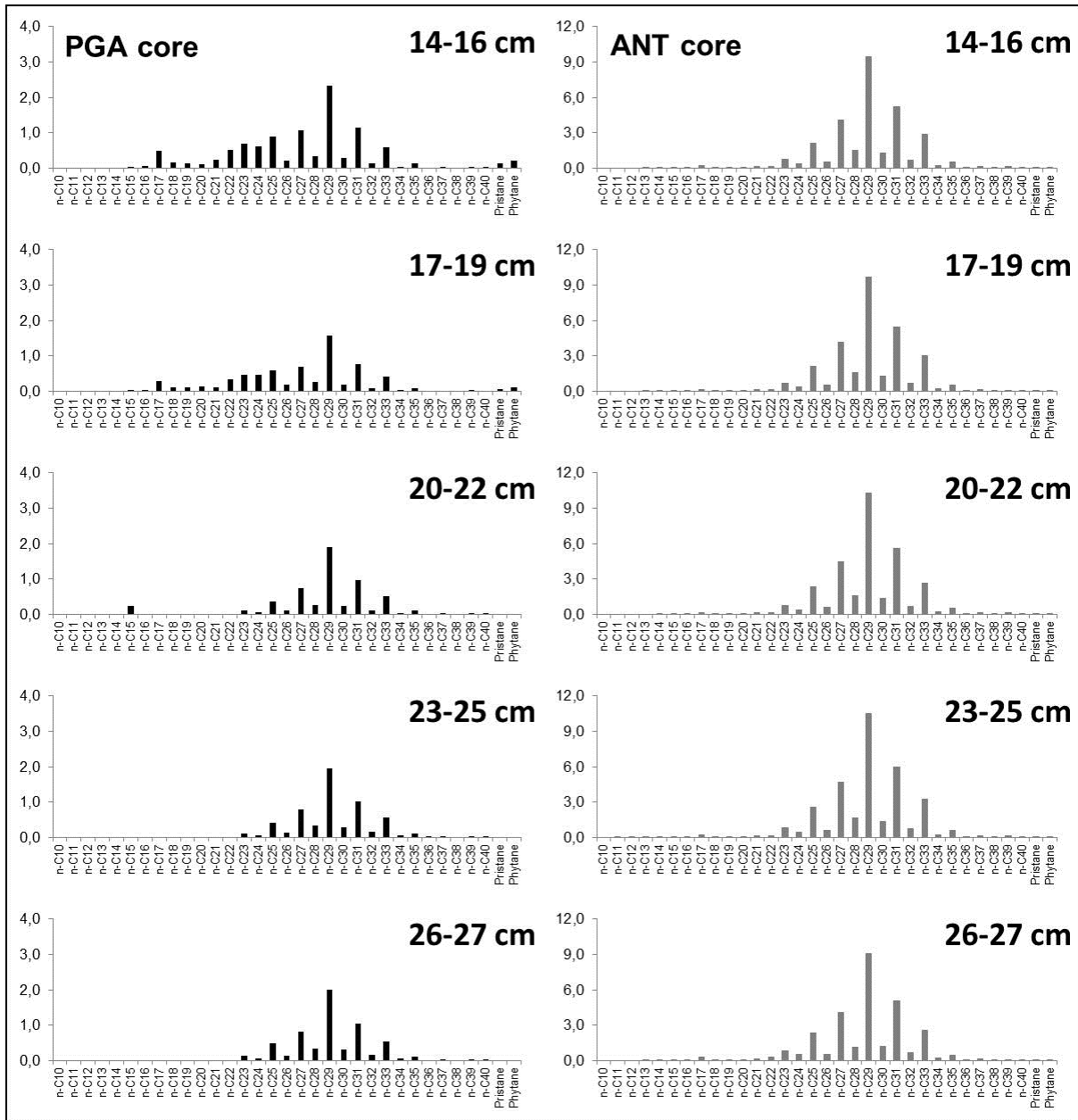
Core	Section [cm]	Estimated year	Mean grain size [mm]	Size class	% Sands	% Silts	Sorting	Kurtosis class
PGA	0-2	2014-2006	0.124	FS	81.8	18.2	PS	Pk
	2-4	2006-1999	0.104	VFS	77.5	22.5	PS	Mk
	4-6	1999-1991	0.132	FS	80.6	19.4	PS	Mk
	6-8	1991-1983	0.075	VFS	68.3	31.7	PS	Lk
	8-10	1983-1976	0.079	VFS	69.0	31.0	PS	Lk
	11-13	1972-1964	0.193	FS	84.9	15.1	PS	Pk
	14-16	1960-1952	0.092	VFS	75.8	24.2	PS	Mk
	17-19	1949-1941	0.232	FS	85.8	14.2	PS	Pk
	20-22	1937-1929	0.272	FS	92.2	7.8	PS	Lk
	23-25	1926-1918	0.176	FS	83.2	16.8	PS	Pk
	26-27	1916-1910	0.135	FS	79.1	20.9	PS	Mk
ANT	0-2	2014-2006	0.076	VFS	65.4	34.6	PS	Lk
	2-4	2006-1999	0.086	VFS	71.7	28.3	PS	Lk
	4-6	1999-1991	0.081	VFS	68.2	31.8	PS	Lk
	6-8	1991-1983	0.076	VFS	66.6	33.4	PS	Lk
	8-10	1983-1976	0.084	VFS	69.6	30.4	PS	Lk
	11-13	1972-1964	0.076	VFS	66.2	33.8	PS	Lk
	14-16	1960-1952	0.082	VFS	70.0	30.0	PS	Lk
	17-19	1949-1941	0.029	MS	22.1	77.9	PS	Pk
	20-22	1937-1929	0.094	VFS	72.2	27.8	PS	Mk
	23-25	1926-1918	0.080	VFS	69.3	30.7	PS	Lk
	26-27	1916-1910	0.033	MS	23.4	76.6	PS	Pk

123
 124

125 **Fig. SM1.** Distribution of individual n-alkanes, pristane and phytane, in $\mu\text{g g}^{-1}$, in sediment
 126 sections from PGA and ANT cores, Paranaguá Estuarine System, Brazil.
 127



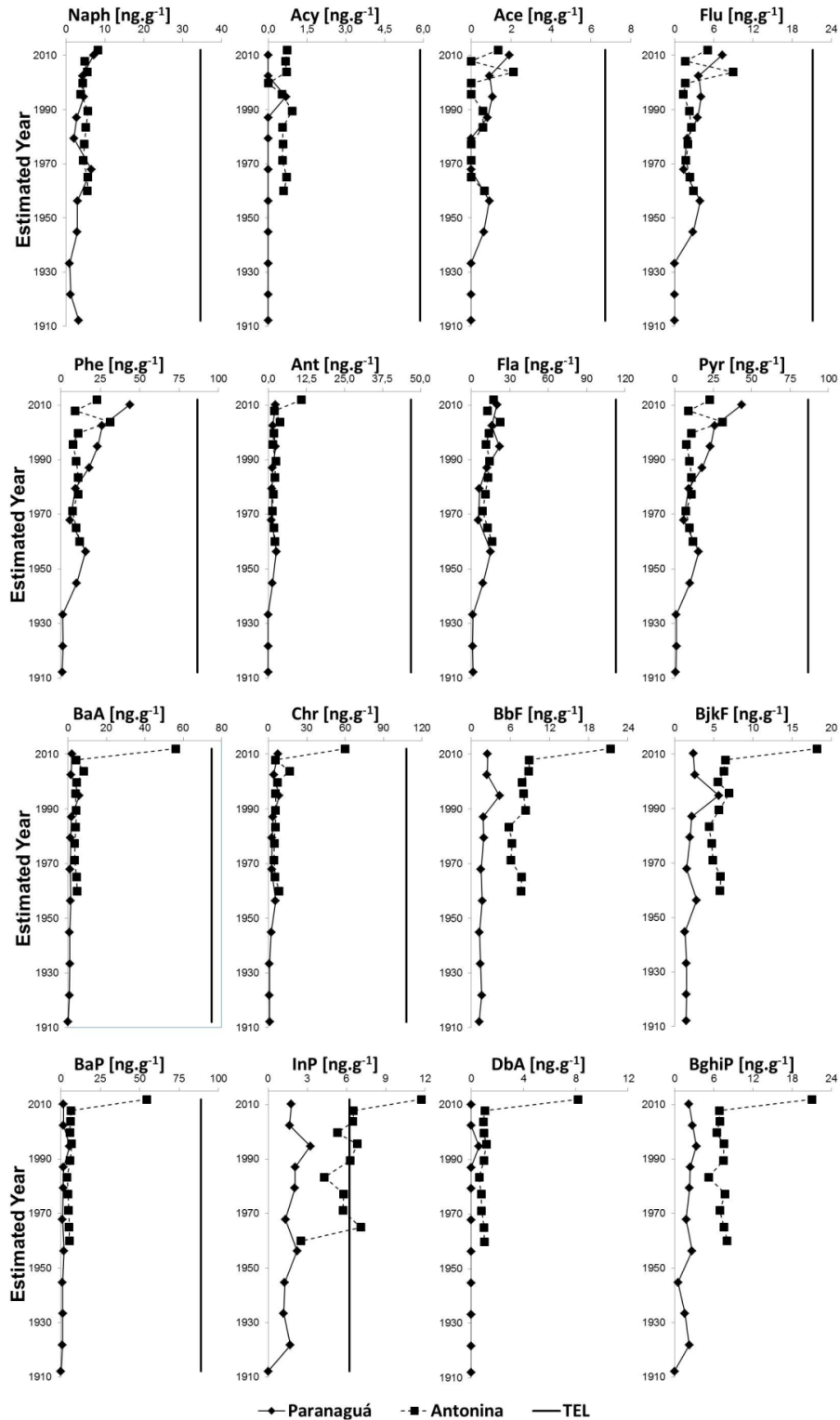
153 **Fig. SM1** (continued). Distribution of individual n-alkanes, pristine and phytane, in $\mu\text{g g}^{-1}$, in
 154 sediment sections from PGA and ANT cores, Paranaguá Estuarine System, Brazil.
 155



178
 179
 180
 181
 182
 183
 184
 185

Fig. SM2. Sediment depth profiles of individual sixteen USEPA polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sections of the PGA (a) and ANT (b) cores. Naph = naphthalene; Acy = acenaphthylene; Ace = acenaphthene; Flu = fluorene; Phe = phenanthrene; Ant = anthracene; Fla = fluoranthene; Pyr = pyrene; BaA = benz(a)anthracene; Chr = chrysene; BbF = benzo(b)fluoranthene; BjkF = benzo(j+k)fluoranthene; BaP = benzo(a)pyrene; InP = indeno(1,2,3-cd)pyrene; DbA = dibenz(a,h)anthracene; BghiP = benzo(ghi)perylene.

186
 187
 188
 189
 190
 191
 192
 193
 194
 195
 196
 197
 198
 199
 200
 201
 202
 203
 204
 205



206 **Fig. SM3.** Selected chromatograms of aliphatic hydrocarbons fraction in the sediment samples from
207 the PGA and ANT cores, Paranaguá Estuarine System, Brazil.

208

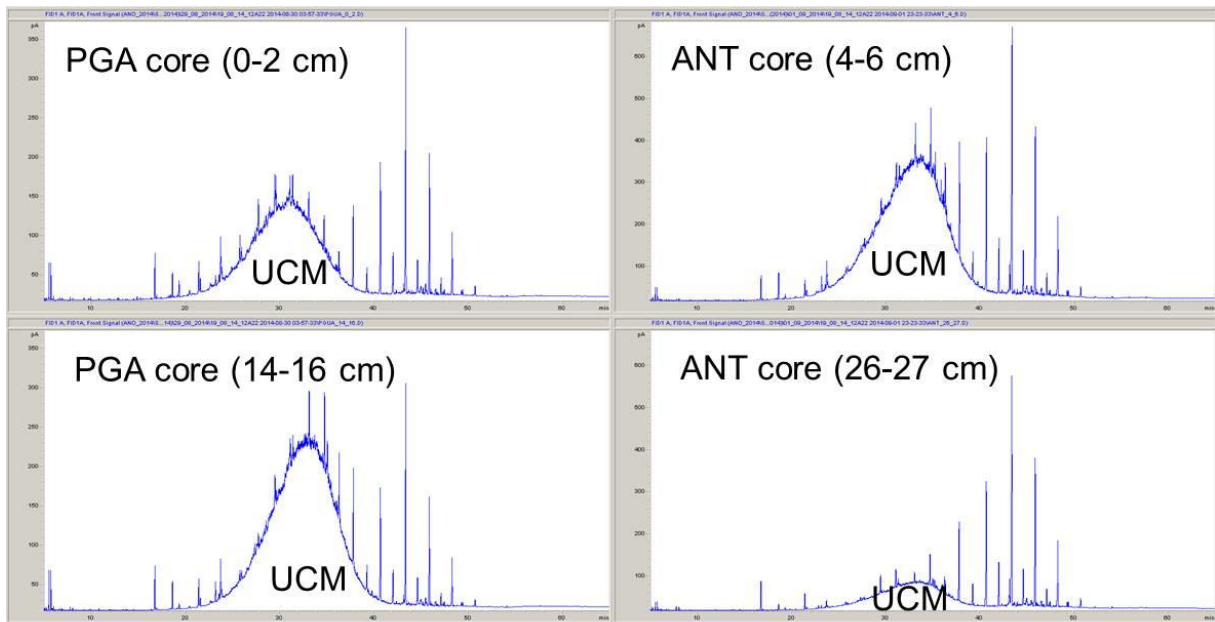
209

210

211

212

213



214

215

216

217

218

UCM: Unresolved Complex Mixture

ANEXO C – CAPÍTULO 5 - 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)



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)

César C. Martins ^{a,*}, Marcia C. Bícigo ^b, Rubens C.L. Figueira ^b, José Lourenço F. Angelli ^{c,1}, Tatiane Combi ^{c,1}, Wellington C. Gallice ^{c,1}, Andressa V. Mansur ^{c,1}, Emanuela Nardes ^{c,1}, Marília L. Rocha ^{c,1}, Edna Wisnieski ^{c,1}, Liziane M.M. Ceschim ^{a,b}, Andreza P. Ribeiro ^b

^a Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná – Caixa Postal 61, 83255-976, Pontal do Paraná, PR, Brazil

^b Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo – Praça do Oceanográfico, 191, 05508-120, São Paulo, SP, Brazil

^c Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos (PGSISCO) da Universidade Federal do Paraná – Caixa Postal 61, 83255-976, Pontal do Paraná, PR, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 July 2011

Received in revised form 29 November 2011

Accepted 29 November 2011

Available online 13 January 2012

Keywords:

Sterols

Hydrocarbons

Trace metals

Laranjeiras Bay

ABSTRACT

The sources and concentrations of aliphatic hydrocarbons (AHs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), faecal and biogenic sterols, and trace metals at 10 sampling sites located in Laranjeiras Bay, a large Environmental Protection Area in the southern Atlantic region of Brazil, were determined to assess the sources of organic matter and the contamination status of estuarine sediments. Organic compounds were determined by GC-FID and GC-MS, and ICP-OES was used to evaluate trace metals. The total AHs concentration ranged from 0.28 to 8.19 $\mu\text{g g}^{-1}$, and n-C₂₉ and n-C₃₁ alkanes were predominant, indicating significant inputs from higher terrestrial plants. Unresolved complex mixtures (UCM) were not detected at any site, suggesting that the study area was not significantly contaminated by fossil fuels. The total PAH concentration varied from 3.85 to 89.2 ng g^{-1} . The ratio between selected PAH isomers showed that combustion of biomass, coal, and petroleum is the main source of PAHs in the study area. The concentrations of the faecal sterols coprostanol and epicoprostanol were below the detection limits, suggesting that sewage was not a significant contributor to sedimentary organic matter. The concentrations of the trace metals (As, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) were low, except near sites located at the mouths of rivers that discharge into the study area and near urbanised regions (Paranaguá city and the adjoining harbour). In general, the concentrations of PAHs were below the threshold effect concentrations (TEL) levels. Although the As, Cr and Ni concentrations were above the TEL levels, the study area can be considered as preserved from human activities.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In recent decades, the biogeochemical cycles of estuarine environments have experienced considerable anthropogenic impacts due to an increase in organic matter and trace element inputs via the mobilisation of continental material and atmospheric deposition (Prieto et al., 2008; Langston et al., 2010). Tourism and population growth along the embayments, fisheries and harbours of estuaries lead to the production of waste water and the release of untreated waste into aquatic environments, altering water quality, and affecting the dynamics of coastal environments (Oros and Ross, 2004).

Laranjeiras Bay (25°24'S; 48°23'W), the focus of this study, is an Environmental Protection Area that has significant ecological

functions. Moreover, Laranjeiras Bay is one of the last preserved Atlantic Rainforests of South America and has been classified as a biosphere reserve by the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organisation (UNESCO) since 1993. The study area contains several conservation units and possesses diverse environments such as islands, mangroves, salt marshes, rivers, tidal creeks, rocky shores and sand beaches (Lana et al., 2001). Although the area is considered pristine, the region is located in the Paranaguá estuarine system (25°30'S; 48°25'W), which is the third most important estuarine environment on the Brazilian coast with fishing activities, urban and tourist areas and industries associated with fertiliser plants, fuel terminals and South American grain shipping ports (Martins et al., 2010a, 2011), offering the potential to contaminate Laranjeiras Bay.

Markers such as hydrocarbons and sterols have been used to determine the origin of organic matter in estuarine systems and have been applied as tracers for human activities along coastal areas of industrial and urban centres in several regions of the world (e.g. Bícigo et al., 2006; Muniz et al., 2006).

* Corresponding author. Tel./fax: +55 413511 8637.

E-mail address: ccmart@ufpr.br (C.C. Martins).

¹ These authors contributed equally to this work.

The concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and aliphatic hydrocarbons (AHs) such as n-alkanes and unresolved complex mixtures (UCM) in sediments have been used to assess petroleum and petroleum by-product contamination in marine environments (Silva and Bicego, 2010). However, these molecular geochemical markers can be derived from natural or anthropogenic sources (Aboul-Kassim and Simoneit, 1996; Wang et al., 2001).

PAHs are environmentally persistent organic pollutants. Due to the mutagenic and carcinogenic effects of several PAHs, the United States Environmental Protection Agency (USEPA) and the European Union include PAHs on their lists of priority pollutants (Boll et al., 2010). PAHs are primarily derived from anthropogenic sources including the combustion of fossil fuels, sewage, vehicular emissions and petroleum and related by-product spills (Yunker and Macdonald, 2004; Martins et al., 2010b; Wang et al., 2010a). In particular, high molecular weight PAHs ($MW \geq 202$) with 4–6 aromatic rings are frequently associated with combustion processes (Yunker et al., 2002) and are highly toxic to organisms (Yang et al., 2008).

Faecal sterols such as coprostanol ($5\beta(H)$ -colest- 3β -ol) and epicoprostanol ($5\beta(H)$ -colest- 3α -ol) are present in human faeces and sewage effluents and have been used as tracers for human waste along coastal areas of industrial and urban centres in several regions (Carreira et al., 2009; Wang et al., 2010b). Other sterols such as cholesterol (cholest- $5en$ - 3β -ol) and cholestanol ($5\alpha(H)$ -cholest- 3β -ol) are usually found as the main sterol in aquatic systems due to its ubiquitous distribution in zooplankton and phytoplankton (Volkman, 2005; Loh et al., 2008). In addition, sterols such as sitosterol (24-ethylcholest- $5-en$ - 3β -ol), stigmasterol (24-ethylcholesta- $5,22-E$ -dien- 3β -ol), and campesterol (24-methylcholesta- $5-en$ - 3β -ol) can be used to determine the contributions of marine organisms, vascular plants and bacteria to the organic pool (Volkman et al., 1998; Hudson et al., 2001).

Trace elements (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) occur naturally in the Earth's crust. However, as most of these are used in industrial activities, they are present at elevated concentrations in anthropogenically contaminated locations (Luiz-Silva et al., 2008). Thus, natural and anthropogenic contributions to trace element concentrations must be differentiated (Santos et al., 2005). Due to their high mobility, affinity for organic matter and capacity for biomagnification, the aforementioned elements can be harmful to biota (Gorski et al., 2003). Moreover, trace elements tend to accumulate in the sediment of marine environments and are highly toxic to organisms (Caccia et al., 2003).

Integrated analyses of organic and inorganic contaminants in the southwestern Atlantic have rarely been used as indicators of human activities. Nevertheless, in this study, the concentrations of sterols, hydrocarbons and trace elements in surface sediments at selected sites were analysed to assess the sources of organic matter and the contamination status of a pristine area located in a large estuarine environment in South America.

2. Study area

The Paranaguá estuarine system is located in Paraná State, which is situated on the coast of southeastern Brazil (Fig. 1). The Paranaguá estuarine system has a water volume of approximately 2×10^9 m³, an area of 612 km² and is divided into two main sections: (a) the western section, which is formed by Paranaguá and Antonina Bay, and (b) the northern section, which is formed by Pinheiros and Laranjeiras Bay (Lana et al., 2001).

The tidal regime is semi-diurnal, with diurnal inequalities, and the spring tide is less than 2 m. The system shelters dunes, extensive marginal tidal flats and mangrove swamps and contains species such as *Rhizophora mangle*, *Avicennia schaueriana* and *Laguncularia racemosa*.

The Laranjeiras Bay (240 km²) can be divided into three sub-estuaries, including the Itaqui, Benito and Guaraqueçaba inlets, all of

which contribute to the large drainage area of the region (approximately 1462 km²) (Noernberg et al., 2008). Sediments at the bottom of the bay range from medium silts to fine sands, most of which are poorly selected, and the organic matter content is approximately 5% (Lamour et al., 2004). The vegetation cover represents one of the last preserved areas of the Atlantic rainforest (Lana et al., 2001). The surrounding region shelters traditional villages, which have a total population of approximately 7900 inhabitants. The most important economic activities are agriculture, fishery and tourism (Noernberg et al., 2008).

3. Sampling and analytical methodologies

3.1. Sediment sampling

To evaluate organic compounds and trace metal inputs from natural and anthropogenic sources in Laranjeiras Bay, 10 sediment samples were collected in August, 2010 (Fig. 1 and Table 1). Sediments were sampled with a stainless steel grab (surface area: 0.04 m²). The top 2 cm of undisturbed surface sediment was placed into pre-cleaned aluminium foil and plastic bags for organic marker and trace element analyses, respectively, and stored at -20 °C. The sediments were oven dried (40 °C), carefully homogenised with a mortar and stored in clean glass bottles at room temperature until organic markers and trace elements analysis.

3.2. Organic markers

3.2.1. Extraction and fractioning

The analytical procedure described by Martins et al. (2007) was adopted in this study. Approximately 20 g of sediment was Soxhlet extracted over 8 h using 80 mL of a mixture of (1:1) dichloromethane (DCM) and n-hexane. A mixture of surrogates was added prior to sample extraction; hexadecene and eicosene were used as representative AHs, and naphthalene-d₈, acenaphthene-d₁₀, phenanthrene-d₁₀, chrysene-d₁₂, and perylene-d₁₂ were used as representative PAHs. The DCM/n-hexane extract was purified using the column chromatography with 5% deactivated alumina (1.8 g) and silica (3.2 g). Elution was performed with 10 mL of n-hexane (fraction 1 – NAHs) and 15 mL of a (3:7) DCM/n-hexane mixture (fraction 2 – PAHs).

The sterol analysis was based on the method described by Kawakami and Montone (2002). More than 20 g of sediment from each site was extracted for 8 h using a Soxhlet system and 70 mL of ethanol. The surrogate, 5α -cholestane, was added before each extraction. The ethanol extract was reduced to approximately 2 mL by rotoevaporation, and the concentrated ethanol extract was purified via column chromatography. Specifically, 2 g of 5% deactivated alumina was used, and elution was performed with 15 mL of ethanol. The extracts were evaporated to dryness and were derivatised with BSTFA (bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide) and 1% TMCS (trimethylchlorosilane) for 90 min at 65 °C to form trimethylsilyl ethers.

3.2.2. Instrumental analyses and quality assurance procedures

The procedure described by Martins et al. (2007) and Montone et al. (2010) was used to assess the concentrations of AHs and sterols, respectively. The analyses were performed with an Agilent GC (model 7890A) equipped with a flame ionisation detector and an Agilent 122-50-32 (DB5) capillary fused silica column coated with 5% diphenyl/dimethylsiloxane (length = 30 m, ID = 0.25 mm, film thickness = 0.25 μ m). Hydrogen was used as the carrier gas. For AHs, the following oven temperature programme was employed: 40 °C for 2 min, 40–60 °C at a ramp rate of 20 °C min⁻¹, 60–250 °C at a ramp rate of 5 °C min⁻¹, 250–320 °C at a ramp rate of 6 °C min⁻¹, and 320 °C for 20 min. To analyse the sterol concentration, the following oven temperature programme was used: 40–240 °C at a ramp rate

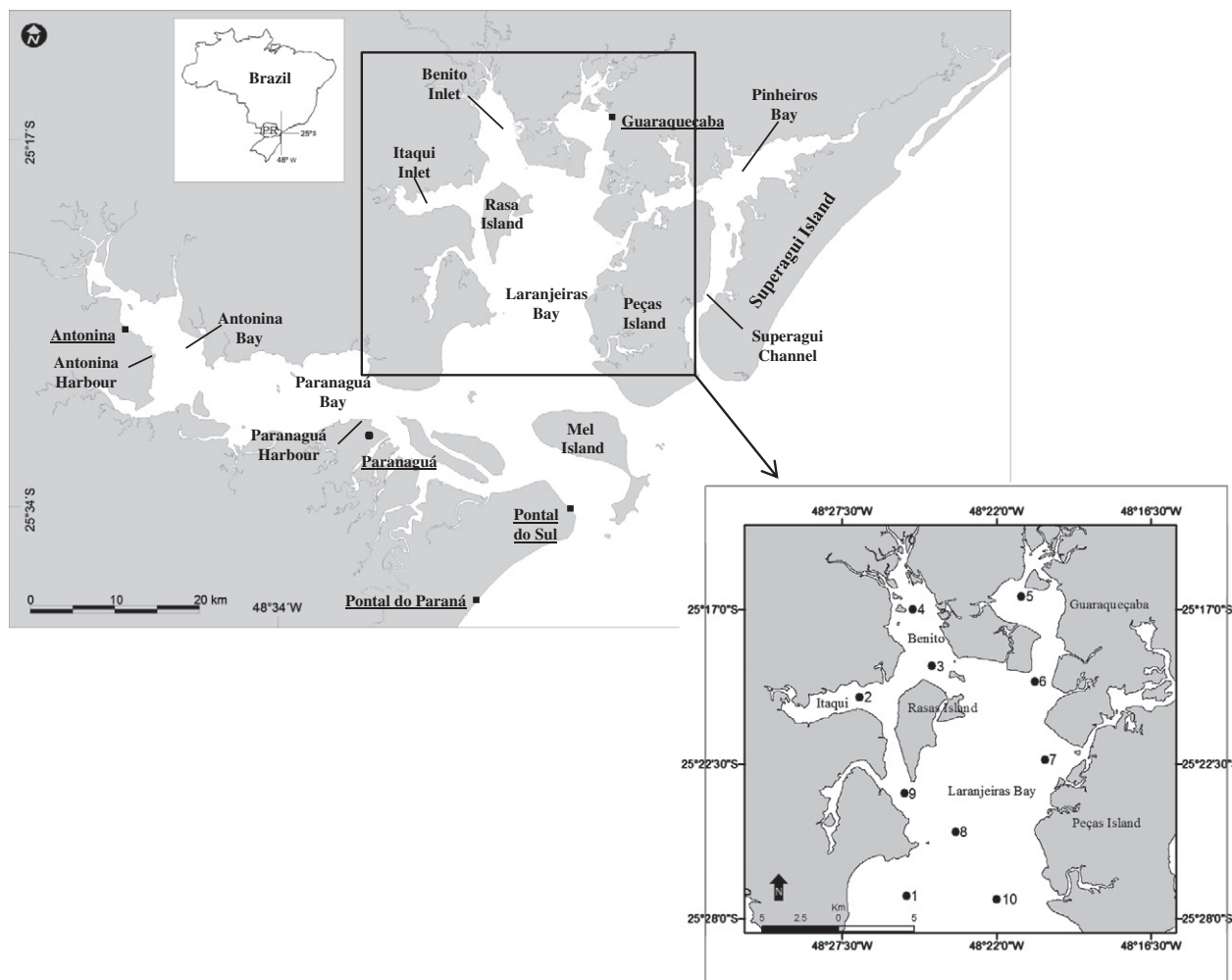


Fig. 1. Map of the study area showing the sediment sampling sites in the Laranjeiras Bay, Brazil.

of $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, $240\text{--}245\text{ }^{\circ}\text{C}$ at a ramp rate of $0.25\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, $245\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 5 min, $245\text{--}300\text{ }^{\circ}\text{C}$ at a ramp rate of $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, and $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 5 min. The compounds were individually identified by matching the retention time to the results obtained from standard mixtures of ($\text{C}_{10}\text{--}\text{C}_{40}$) n-alkanes and sterols. Concentration of individual compounds was obtained by the internal standard peaks area method and 5-point calibration curve for individual components (0.25 to $10.0\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$, $r > 0.995$). Relative response factors for sterols not included in the standard compounds were calculated by linear interpolation. UCM was calculated using the mean response factors of n-alkanes.

Table 1

Description of sites and location of the sediments collected in the Laranjeiras Bay, Brazil.

Site	Description of site	Latitude	Longitude
1	Laranjeiras Bay (West)	$25^{\circ}27'14''\text{S}$	$48^{\circ}25'14''\text{W}$
2	Itaqui Inlet	$25^{\circ}20'80''\text{S}$	$48^{\circ}26'53''\text{W}$
3	Benito Inlet mouth	$25^{\circ}19'20''\text{S}$	$48^{\circ}24'20''\text{W}$
4	Benito Inlet	$25^{\circ}17'10''\text{S}$	$48^{\circ}25'00''\text{W}$
5	Guaraqueçaba Inlet	$25^{\circ}16'33''\text{S}$	$48^{\circ}21'80''\text{W}$
6	Guaraqueçaba Inlet mouth	$25^{\circ}19'36''\text{S}$	$48^{\circ}20'41''\text{W}$
7	Peças Island	$25^{\circ}22'22''\text{S}$	$48^{\circ}20'18''\text{W}$
8	Laranjeiras Bay (Centre)	$25^{\circ}24'56''\text{S}$	$48^{\circ}23'29''\text{W}$
9	Rasa Island	$25^{\circ}23'34''\text{S}$	$48^{\circ}25'19''\text{W}$
10	Laranjeiras Bay (East)	$25^{\circ}27'20''\text{S}$	$48^{\circ}22'10''\text{W}$

The instrumental analysis procedure described by Martins et al. (2010b) was used to evaluate the concentration of PAHs. The analyses were performed with an Agilent GC (model 6890) coupled to a mass spectrometer detector (model 5973) and an Ultra-2 capillary fused silica column coated with 5% diphenyl/dimethylsiloxane (length = 30 m, ID = 0.32 mm, film thickness = 0.25 μm). Helium was used as the carrier gas. The temperature programme used to identify PAHs was identical to the procedure used for the quantification of NAHs. Data acquisition was conducted in SIM mode, and Agilent Enhanced Chemstation G1701 CA was used to perform the measurements. Compounds were identified by matching the retention times and ion mass fragments with the results obtained from standard mixtures of PAHs (NIST 2260 – Aromatic Hydrocarbons Standard Reference Material) at concentrations ranging from 0.10 to $1.50\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$.

Procedural blanks were performed for each series of 10 extractions and no peaks interfered with the analyses of target compounds. Blank samples correspond a portion of 25 g of sodium sulphate anhydride, heated at $450\text{ }^{\circ}\text{C}$, prior the extraction procedure. It can be used to the evaluation of contamination during laboratory procedures. The recovery of surrogates ranged from 45 to 120% for aliphatic and aromatic hydrocarbons and from 41 to 125% for sterols. The detection limits (DL) were obtained from three times the standard deviation in seven replicates of method blanks (Wade and Cantillo, 1994) and it was $0.001\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ for ($\text{C}_{10}\text{--}\text{C}_{40}$) n-alkanes, $0.01\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ for sterols and 0.5 ng g^{-1} for PAHs. The measured concentrations of target aliphatic hydrocarbons, PAHs and sterols in the IAEA-408 reference

material were within 90–110% of the certified values provided by the International Atomic Energy Agency (IAEA) (Villeneuve et al., 2000). In addition, 85% of the PAHs were present in concentrations within the aforementioned range. An experiment of precision, based on the analysis of five replicate samples from Paranaguá Bay, was used to verify precision. The precision ranged from 3.2 to 10.4% for PAHs, 6.7 to 19.1% for sterols, and 12.0 to 24.7% to aliphatic hydrocarbon.

3.3. Trace elements

Elemental analyses (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) were conducted according to the procedure described in Method 3050b of the SW-846 series (USEPA, 1996). Approximately 2 g of dry sediment was digested with 10 mL of 1:1 HNO₃/HCl at 95 °C for 15 min. After cooling, another 5 mL of concentrated HNO₃ was added, and the solution was heated for 30 min. The second procedure was repeated until digestion of the sample was complete. Subsequently, 2 mL of water and 3 mL of 30% H₂O₂ were added under heat until all organic matter was eliminated. After this step, 10 mL of concentrated HCl was added, heated for 15 min and filtered afterwards through a Whatman 41 filter. Filtrates were collected. The solution was analysed with an ICP-OES (Varian MPX 710ES model) according to the procedure described in Method 6010c (USEPA, 2007). For all elements, the measurement precision was greater than 5%.

Certified reference materials EnviroMat SS-1 and SS-2 soil standards from SCP Science were analysed to verify the accuracy of the methodology. Reagent blanks were run with all of the samples and the signals of the blanks were less than 0.2% of the sample signals. For all of the studied elements, the relative standard deviation of the experimental data was less than 6%. The agreement between the measured and the certified concentrations was better than 9%, indicating the precision and the accuracy for the methodology employed in the chemical analysis.

4. Results and discussion

4.1. Sterols

The sterol results are summarised in Table 2. In total, 12 sterols were detected in the surficial sediments of Laranjeiras Bay. Significant structural diversity and complex compositions were observed; thus, a variety of sources contributed to the composition of sedimentary organic matter in the study area.

The following sterols were detected: (i) C₂₇ sterols cholesta-5,22-E-dien-3β-ol (dehydrocholesterol), cholest-5en-3β-ol (cholesterol), and 5α-cholestan-3β-ol (cholestanol); (ii) C₂₈ sterols 24-methylcholesta-5,22-E-dien-3β-ol (brassicasterol), 24-methylcholestan-22-E-en-3β-ol

(brassicastanol), 24-methylcholesta-5-en-3β-ol (campesterol), and 24-methylcholestan-3β-ol (campestanol); (iii) C₂₉ sterols 24-ethylcholesta-5,22E-dien-3β-ol (stigmasterol), 24-methylcholestan-22E-en-3β-ol (stigmastanol), 24(α + β)-ethylcholest-5-en-3β-ol (sitosterol), and 24-ethylcholestan-3β-ol (sitostanol); and (iv) C₃₀ sterol 4α,22,23-trimethylcholest-22E-en-3β-ol (dinosterol).

The concentrations of faecal sterols such as coprostanol (5β(H)-cholestan-3β-ol) and epicoprostanol (5β(H)-cholestan-3α-ol) in the sediments were below the detection limits (0.01 ng g⁻¹), indicating that sewage contamination does not affect the investigated estuarine sediments.

The total sterol content varied from 2.9 (site 4) to 36.8 μg g⁻¹ (site 6) (mean value ± SD = 13.5 ± 9.0 μg g⁻¹). At sites located in the inner region of Laranjeiras Bay (2, 3, 4, 5 and 6), stigmasterol was the most predominant sterol, representing 23 to 42% of the total sterols at these locations. Campesterol was the most important sterol in sites located in the external region of Laranjeiras Bay (1, 7, 8 and 10), corresponding to 12 to 31% of all sterols. These sterols are usually considered to be tracers for terrestrial vascular plants; however, they may also be produced by marine sources (algae and bacteria) (Volkman, 2005; Costa et al., 2011).

To determine the origin of the sterols, the campesterol:stigmasterol:sitosterol ratio (Table 3) was calculated to identify the source of these compounds. Values between 1:1.4:4.0 and 1:1.6:6.0 are indicative of a continental origin, while lower values indicate marine plankton sources (Laureillard and Saliot, 1993; Carreira et al., 2009). The ratios presented in Table 3 show that stigmasterol could be considered a terrestrially derived sterol at sites 2, 3, 4, 5 and 6 (between 1:1.4 and 1:3.4). These sites are located near the mouths of rivers, which can transport land-derived organic matter from mangrove forests. Mangrove vegetation, mainly *L. racemosa*, is the source of plant sterols for these sites. Similar results were obtained by Koch et al. (2003) and Mater et al. (2004), who studied the mangrove ecosystem in the Bragança peninsula of Northern Brazil and Santa Catarina Island of Southern Brazil, respectively.

The origin of sitosterol in aquatic systems remains unclear because typical analytical conditions cannot be used to identify the position of the isomeric 24-ethyl group. The 24α isomer (clionasterol) is derived from plankton, while the 24β isomer (β-sitosterol) is produced by higher plants (Carreira et al., 2009). Due to the low campesterol:sitosterol ratio at the sites (1.0:0.3 to 1.0:2.0), sitosterol is likely to be associated with marine sources.

Sites 1, 7, 8, 9 and 10 had low ratios (mean = 1.0:0.4:0.4), suggesting a predominance of marine sources for sedimentary organic matter. Organisms such as diatoms (*Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* sp., *Navicula* sp, *Melosira* sp, *Coscinodiscus* sp), prymnesiophycean algae (*Phaeocystis* sp) and cyanobacteria (*Trichodesmium*) may represent the main marine sources of campesterol, stigmasterol and

Table 2
Concentrations of sterols, in μg g⁻¹, for the sediments collected in Laranjeiras Bay, Brazil.

Steroids/sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mean ± SD
Coprostanol	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
Epicoprostanol	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
Dehydrocholesterol	1.00	0.66	0.28	0.09	1.50	1.99	0.87	0.36	0.53	0.48	0.78 ± 0.56
Cholesterol	0.41	0.94	0.36	0.50	1.03	1.63	0.49	1.23	1.94	1.27	0.98 ± 0.52
Cholestanol	0.20	0.23	0.17	0.08	0.39	0.69	0.20	0.56	0.43	0.41	0.34 ± 0.18
Brassicasterol	0.43	0.74	0.32	0.18	0.79	2.37	0.31	1.19	0.79	0.51	0.76 ± 0.61
Brassicastanol	0.09	0.13	0.09	0.03	0.29	0.78	0.35	0.45	0.25	0.27	0.27 ± 0.21
Campesterol	1.02	1.83	0.67	0.52	2.19	4.68	1.73	4.06	2.38	2.82	2.19 ± 1.30
Campestanol	0.46	0.80	0.40	0.03	0.32	0.72	0.31	0.49	0.35	0.44	0.43 ± 0.20
Stigmasterol	1.01	6.24	1.84	0.73	6.72	12.1	0.78	1.08	0.76	0.60	3.19 ± 3.70
Stigmastanol	0.55	0.69	0.39	<DL	1.05	2.90	0.11	0.40	0.13	0.48	0.74 ± 0.81
Sitosterol	0.58	0.75	1.31	0.32	1.81	2.35	0.69	1.54	1.02	0.94	1.13 ± 0.59
Sitostanol	0.66	0.88	1.27	0.12	1.66	3.25	0.57	0.97	0.87	0.78	1.10 ± 0.81
Dinosterol	0.97	1.14	0.83	0.26	1.40	2.15	1.49	0.84	2.57	2.34	1.40 ± 0.71
Total sterols	7.60	15.6	7.93	2.86	19.7	36.8	7.90	13.3	12.1	11.4	13.5 ± 9.0

Table 3
Ratios involving different sterols for the sediments collected in Laranjeiras Bay, Brazil.

Ratios/sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I	0.57 ± 0.31	0.43 ± 0.39	0.51 ± 0.27	0.19 ± 0.12	0.39 ± 0.28	0.51 ± 0.45	0.54 ± 0.38	0.39 ± 0.16	0.34 ± 0.26	0.53 ± 0.26
II	1.0:1.0:0.6	1.0:3.4:0.4	1.0:2.7:2.0	1.0:1.4:0.6	1.0:3.1:0.8	1.0:2.6:0.5	1.0:0.5:0.4	1.0:0.3:0.4	1.0:0.3:0.4	1.0:0.2:0.3

I: mean value of stanol ratios (cholestanol/cholesterol, brassicastanol/brassicaterol, campestanol/campesterol, stigmastanol/stigmaterol and sitostanol/sitosterol).
II: campesterol/stigmaterol/ β -sitosterol.

sitosterol (Brandini and Fernandes, 1996; Lana et al., 2001; Volkman, 2005).

Cholesta-5,22-E-dien-3 β -ol (dehydrocholesterol) and cholest-5-en-3 β -ol (cholesterol) are typically the primary sterols in aquatic systems due to ubiquitous distribution of these compounds in zooplankton and phytoplankton (Loh et al., 2008). These compounds were the third most abundant sterols at sites 1, 4, 7, 8, 9 and 10, representing 9.3 to 20.7% of all sterols. The phytoplankton community in this region consists of the aforementioned algae, diatoms and cyanobacteria, while zooplankton is dominated by copepods (*Acartia tonsa*, *Oithona oswaldocruzi*, *Acartia lilljeborgi*, *Philautus acutus* and *Oithona hebes*) (Brandini and Fernandes, 1996; Lana et al., 2001). These organisms may be potential sources of cholesterol and dehydrocholesterol in the study area (Carreira et al., 2009).

The sterol 4 α ,23,24-trimethyl-5 α -cholest-22E-en-3 β -ol (dinosterol) is commonly used as an unambiguous biomarker for organic matter derived from dinoflagellates in sediments. This compound was one of the most abundant sterols, representing 19.1 to 21.4% of all sterols for sites located far from terrestrial sources of organic matter (sites 7, 9 and 10). The highest concentration of dinosterol was observed at sites with high concentrations of cholesterol and dehydrocholesterol, indicating that marine sources of organic matter strongly influence the accumulation of sedimentary organic matter (Carreira et al., 2009).

Another unsaturated sterol, 24-methyl-cholest-5,22-E-dien-3 β -ol (brassicaterol), was observed in low concentrations, corresponding to 1.1 to 9.0% of all sterols in the study area. This compound is associated with diatoms such as *S. costatum*, *Chaetoceros* sp., *Navicula* sp., *Melosira* sp., *Coscinodiscus* sp., which are present in the marine environment of Laranjeiras Bay (Brandini and Fernandes, 1996).

The saturated sterols 5 α (H)-cholestan-3 β -ol (cholestanol), 24-methyl-5 α (H)-cholestan-3 β -ol (campestanol), 24-methyl-5 α -cholest-22-(E)-en-3 β -ol (brassicastanol), 24-ethyl-cholest-5,22-E-dien-3 β -ol (stigmastanol) and 24-ethyl-5 α -cholestan-3 β -ol (sitostanol) were also observed in the sediments; however, compared with their unsaturated counterparts, very low concentrations were detected (1 to 9% of all sterols). Because saturated sterols are not commonly found in large amounts in organisms, their presence in sediments may indicate the occurrence of diagenic processes (Hassett and Lee, 1977).

The general stanol/stenol ratio, taken as the mean value of the ratios between cholestanol/cholesterol, brassicastanol/brassicaterol, campestanol/campesterol, stigmastanol/stigmaterol and sitostanol/

sitosterol, varied from 0.19 (site 4) to 0.57 (site 1) (Table 3), indicating a predominance of unsaturated sterols with respect to the saturated homologue. Thus, relatively fresh organic matter and low rates of bacterial and hydrogenation diagenetic processes were present in the sediments (Wakeham and Canuel, 2006)

4.2. Non-aromatic hydrocarbons

Table 4 presents the total concentrations of aliphatic hydrocarbons, n-alkanes ranging from C₁₀ to C₄₀ and isoprenoid hydrocarbons (pristane and phytane) and the diagnostic ratios for the identification of natural and anthropogenic origins of aliphatic hydrocarbons in sediments.

The total aliphatic hydrocarbon concentration varied from 0.28 to 8.19 $\mu\text{g g}^{-1}$ (mean value \pm SD = 2.96 \pm 2.23), while the total n-alkane concentration ranged from 0.10 to 6.06 $\mu\text{g g}^{-1}$ (mean value \pm SD = 2.03 \pm 1.70). N-alkanes represented 35 to 76% (mean \pm SD = 63 \pm 13) of all aliphatic hydrocarbons. These concentrations were low, and the absence of unresolved complex mixtures (UCM) and the predominance of n-alkanes at all of the sites suggested that Laranjeiras Bay is not contaminated by oil hydrocarbons. Total aliphatic hydrocarbon concentrations of less than 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ are typical of unpolluted sediments (Volkman et al., 1992; Readman et al., 2002). Higher concentrations were observed at site 6, which is located at the entrance to the Guaraqueçaba inlet, the site of the main city of the study area (Guaraqueçaba). The presence of a small pier and the constant traffic of small boats and ships that bring tourists to this area, which may explain the relatively high concentration of hydrocarbons due small oil spills from these vessels. Similar to sterols, lower concentrations were detected at site 4 (Benito inlet) probably due to low importance of relative sources of this compounds to this site.

The predominance of odd-numbered carbon compounds was evident in the odd/even ratios (Table 4), suggesting natural sources of n-alkanes in the sediments. In particular, n-C₂₉ and n-C₃₁ alkanes were the major alkanes in most samples (Fig. 2). This distribution pattern is indicative of terrigenous inputs derived from higher plant waxes (Volkman et al., 1992). Sites located at the entrance of Laranjeiras Bay (e.g., sites 1, 8 and 10) showed an abundance of n-C₁₇ alkanes (Fig. 2), indicating planktonic inputs (Medeiros et al., 2005) and other marine inputs of organic matter.

Table 4
Concentrations of aliphatic hydrocarbons, in $\mu\text{g g}^{-1}$, and ratios for the sediments collected in Laranjeiras Bay, Brazil.

Parameters/sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mean \pm SD
Pristane	0.011	0.005	<DL	<DL	0.002	0.009	0.002	0.007	0.003	0.005	0.006 \pm 0.003
Phytane	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
Total n-alkanes	0.86	3.28	2.89	0.10	3.00	6.06	0.84	1.10	0.91	1.22	2.03 \pm 1.70
Total aliphatic	1.42	4.83	4.02	0.28	3.97	8.19	1.26	2.45	1.36	1.83	2.96 \pm 2.23
TAR	2.33	27.4	111.6	19.7	96.9	18.0	32.9	3.15	14.1	7.92	33.4 \pm 36.8
CPI ₂₅₋₃₅	5.59	5.75	6.40	4.25	5.46	5.80	5.64	5.30	5.35	5.12	5.46 \pm 0.52
Odd/even (<C ₂₃)	28.6	12.0	8.14	6.00	7.25	12.5	4.30	9.67	14.8	12.6	11.6 \pm 6.5
Odd/even (>C ₂₄)	5.68	5.85	6.50	4.24	5.48	5.92	5.83	5.44	5.47	5.20	5.56 \pm 0.56

Odd/even (<C₂₃) = (($\Sigma_{\text{odd}}C_{11-23}$)/($\Sigma_{\text{even}}C_{10-22}$)); odd/even (>C₂₄) = (($\Sigma_{\text{odd}}C_{25-39}$)/($\Sigma_{\text{even}}C_{24-38}$)).

TAR (terrigenous/aquatic ratio) = ($\Sigma C_{27} + C_{29} + C_{31}$)/($\Sigma C_{15} + C_{17} + C_{19}$).

CPI₂₅₋₃₅ (carbon preference index) = 1/2(($\Sigma_{\text{odd}}C_{25-35}$)/($\Sigma_{\text{even}}C_{24-34}$) + ($\Sigma_{\text{odd}}C_{25-35}$)/($\Sigma_{\text{even}}C_{26-36}$)).

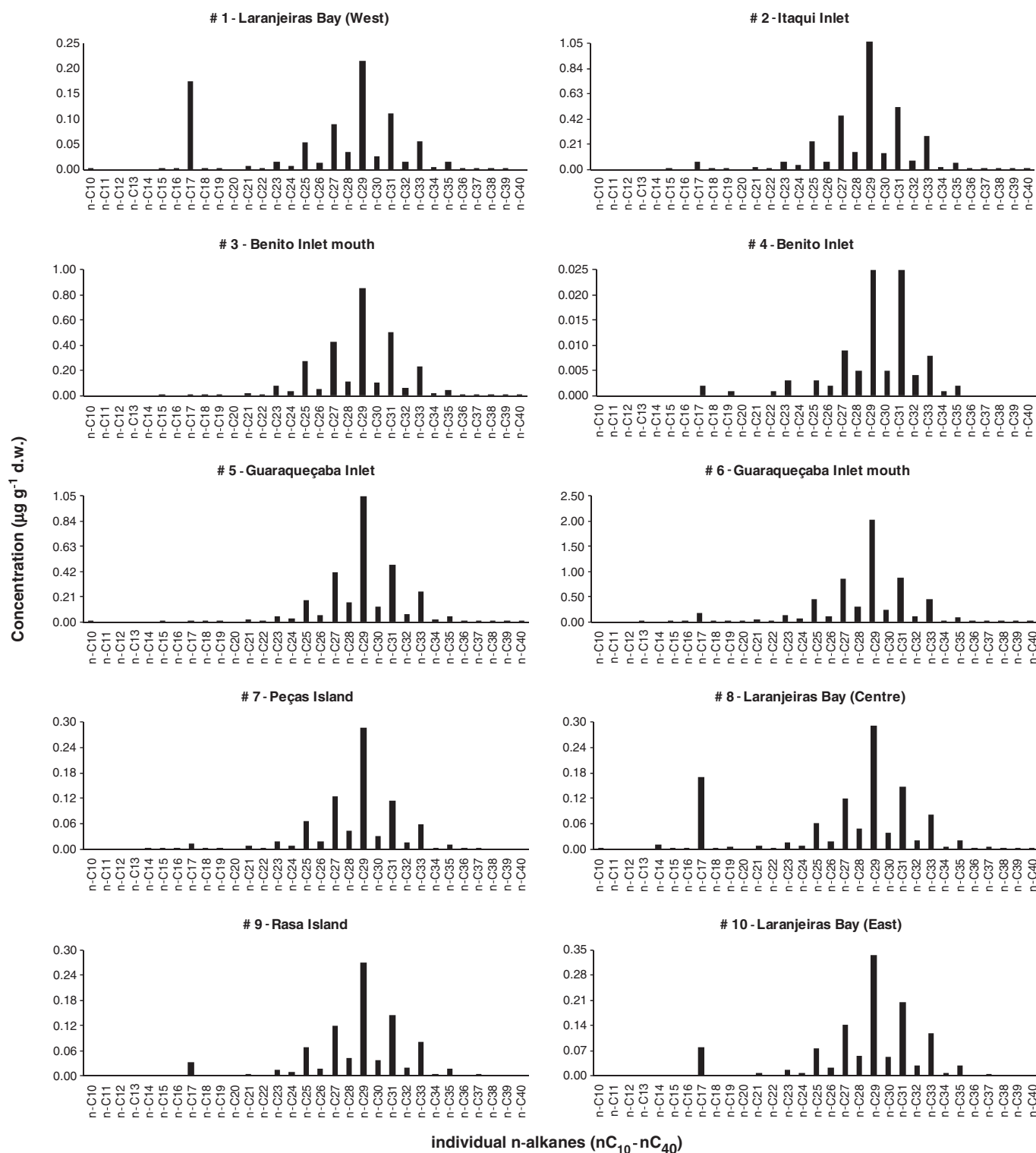


Fig. 2. Distribution of individual n-alkanes, in $\mu\text{g g}^{-1}$, in sediment samples from Laranjeiras Bay, Brazil.

The carbon preference index (CPI_{25-35}), a measure of biologically synthesized n-alkanes indicates the relative contributions from natural (biogenic/terrestrial; $\text{CPI} > 1$) compared to anthropogenic (petroleum pollution; $\text{CPI} < 1$) sources (Aboul-Kassim and Simoneit, 1996). Throughout the entire study area, the CPI values ranged between 4.3 and 6.4, indicating the predominance of recent higher plants n-alkanes.

The contribution of terrigenous and aquatic to the overall composition of n-alkanes was evaluated using the terrigenous/aquatic ratio

(TAR) (Peters et al., 2005). At all sites, the TAR ranged from 2.3 to 111.6, indicating the predominance of long chain biogenic n-alkanes ($n\text{-C}_{27}$, $n\text{-C}_{29}$ and $n\text{-C}_{31}$). Low ratios were observed at sites located at the entrance of Laranjeiras Bay (sites 1, 8 and 10), where the influence of organic matter derived from marine sources was stronger.

The isoprenoid hydrocarbons pristane and phytane are products of the geologic alteration of phytol and other natural isoprenoid products; they are not primary constituents of most terrestrial biota (Steinhauer and Boehm, 1992; Peters et al., 2005). Phytane was not

detected in any sediment samples investigated, while pristane was present at low concentrations ($<0.011 \mu\text{g g}^{-1}$).

4.3. Polycyclic aromatic hydrocarbons

The individual and total concentrations of PAHs are shown in Table 5. The Σ PAH concentration of surface sediments varied from 3.85 to 89.1 ng g^{-1} (dry weight), and the mean concentration was $35.5 \pm 24.9 \text{ ng g}^{-1}$. Similar to sterol and aliphatic hydrocarbon concentrations, PAH concentrations greater than 50 ng g^{-1} were observed at sites 1, 8 and 10, while the lowest concentration was detected at site 4 (3.85 ng g^{-1}).

The spatial distribution of PAHs in the surface sediment was site-specific, and higher concentrations were observed at the entrance and the centre of Laranjeiras Bay (sites 1, 8, and 10), close to harbour activities.

PAHs in estuarine environments are related to pyrolytic sources such as vehicle emissions and the burning of biomass coal, petroleum and related derivatives, to petrogenic sources such as effluents from oil refineries and small oil spills due to ship traffic, and to natural sources such as the post-depositional transformation of organic matter (Oren et al., 2006).

According to Yunker et al. (2002), individual concentrations of selected PAHs can be represented as ratios between isomer pairs to identify possible sources of PAHs in marine sediments. The following

PAH isomer pair ratios were used to identify possible sources in sediments: (i) benz[a]anthracene/benz[a]anthracene + chrysene (BaA/228); (ii) fluoranthene/fluoranthene + pyrene (Fl/Fl + Py); and (iii) indeno[1,2,3-c,d]pyrene/indeno[1,2,3-c,d]pyrene + benzo[ghi]perylene (IP/IP + BghiP).

The PAH isomer pair ratios of the sediment samples are shown in Table 5. Additionally, the isomer pair ratios BaA/228 and IP/IP + BghiP were plotted against Fl/Fl + Py to determine the distribution of PAHs with respect to their possible sources (Fig. 3, based on Yunker et al., 2002).

The PAHs in the study area were predominantly derived from combustion. The BaA/228 ratio was greater than 0.35, indicating that combustion was the primary source of PAHs. At sites 1, 3 and 10, the IP/IP + BghiP ratio presented values typically associated with biomass and coal combustion. Alternatively, at other sites (2, 5, 6, 7, 8 and 9), the IP/IP + BghiP ratio was indicative of petroleum combustion. Despite the predominance of PAHs derived from combustion in Laranjeiras Bay, the Fl/Fl + Py isomer pair ratios showed that petrogenic sources of PAHs at sites 6 and 7. At sites 2 and 3, the Fl/Fl + Py ratio presented values indicative of petroleum combustion, and sites 1, 5, 8, 9 and 10 showed values associated with biomass and coal combustion.

The PAHs detected in the study area is related to the combustion of biomass, such as wood, leaves, grasses and sugar cane during agricultural activities, along the margins of the estuary (sites 1, 3, 5, 8, 9 and 10). The combustion of petroleum (sites 2, 3, 6, 7, 8 and 9) is

Table 5
Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) concentrations in sediment samples from the Laranjeiras Bay (in ng g^{-1} dw).

Compounds/sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TEL level
PAHs (2–3 rings)											
Biphenyl	7.89	4.78	1.01	0.63	0.71	0.70	0.83	11.3	1.53	6.88	–
Acenaphthylene	4.97	1.44	2.07	1.03	<DL	<DL	<DL	16.4	1.27	5.80	5.87
Acenaphthene	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	1.50	<DL	<DL	6.71
Fluorene	1.10	0.65	0.63	<DL	<DL	0.59	0.55	3.64	<DL	1.43	21.2
Phenanthrene	11.0	6.28	0.54	0.92	1.64	2.48	2.61	10.6	1.60	13.3	86.7
Anthracene	0.85	0.61	<DL	<DL	<DL	0.71	0.69	1.88	<DL	0.84	46.9
PAHs (4–6 rings)											
Fluoranthene	7.55	1.56	1.01	0.64	2.19	0.89	1.16	4.09	1.50	6.86	112.8
Pyrene	5.67	1.76	1.32	<DL	1.03	1.79	1.85	3.94	1.00	4.86	152.7
Benz[a]phenanthrene	0.57	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	0.58	–
Benz[a]anthracene	1.22	0.93	0.67	<DL	0.74	1.13	1.10	1.15	<DL	1.30	74.8
Chrysene	1.79	0.95	0.53	<DL	1.01	1.12	1.22	0.99	0.62	1.81	107.8
Benzo[b]fluoranthene	2.10	2.09	1.22	<DL	1.45	1.98	2.34	1.05	0.78	2.30	–
Benzo[j+k]fluoranthene	1.20	1.36	1.03	<DL	0.89	1.72	1.72	0.67	0.55	1.46	–
Benzo[e]pyrene	1.61	1.34	1.03	<DL	1.02	1.84	1.79	0.79	0.53	1.64	–
Benzo[a]pyrene	0.74	1.03	0.62	<DL	0.79	1.35	1.33	0.64	<DL	0.90	88.8
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	1.11	1.92	0.89	<DL	1.28	2.44	2.37	1.30	1.20	1.66	–
Dibenz[ah]anthracene	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	6.22
Benzo[c]chrysene	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	–
Benzo[ghi]perylene	0.68	1.94	0.62	<DL	1.27	2.52	3.05	1.33	1.31	1.15	–
Alkyl-PAHs											
Σ C ₁ -naphthalenes	5.89	2.65	1.95	0.63	1.58	2.01	2.11	19.9	1.64	5.23	–
Σ C ₂ -naphthalenes	2.36	2.92	1.37	<DL	2.14	5.20	4.99	5.34	<DL	0.64	–
Σ C ₃ -naphthalenes	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	–
Σ C ₁ -phenanthrene	1.07	<DL	<DL	<DL	<DL	1.44	2.01	2.57	<DL	1.02	–
Alkyl-PAHs (>3 rings)	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	–
Other PAHs											
Retene	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	–
Perylene	3.78	17.5	16.7	0.75	17.8	25.9	27.5	5.62	12.1	17.5	–
Diagnostic ratios											
Fl/Fl + Py	0.57	0.47	0.43	nc ¹	0.68	0.33	0.39	0.51	0.60	0.59	–
BaA/ Σ 228	0.41	0.49	0.56	nc ^{2,3}	0.42	0.50	0.47	0.54	nc ²	0.42	–
IP/IP + BghiP	0.62	0.50	0.59	nc ^{4,5}	0.50	0.49	0.44	0.49	0.48	0.59	–
% Perylene	13.5	54.1	65.1	54.0	60.4	60.7	60.5	26.1	61.7	41.6	–
Parameters											
Σ PAHs*	59.4	34.2	16.5	3.85	17.9	29.9	31.7	89.1	13.5	59.7	35.5 ± 24.9
Σ Alkyl-PAHs	9.32	5.57	3.32	0.63	3.86	8.65	9.11	27.8	1.64	6.89	7.68 ± 7.33
Σ PAHs (2–3 rings)	25.8	13.8	4.25	2.58	2.35	4.48	4.68	45.3	4.40	28.3	13.6 ± 14.0
Σ PAHs (4–6 rings)	24.2	14.9	8.94	0.64	11.7	16.8	17.9	16.0	7.49	24.5	14.3 ± 7.0

*Not included retene and perylene; nc¹: pyrene <DL; nc²: benz[a]anthracene <DL; nc³: chrysene <DL; nc⁴: indeno[1,2,3-cd]pyrene <DL; nc⁵: benzo[ghi]perylene <DL; TEL (threshold effect level).

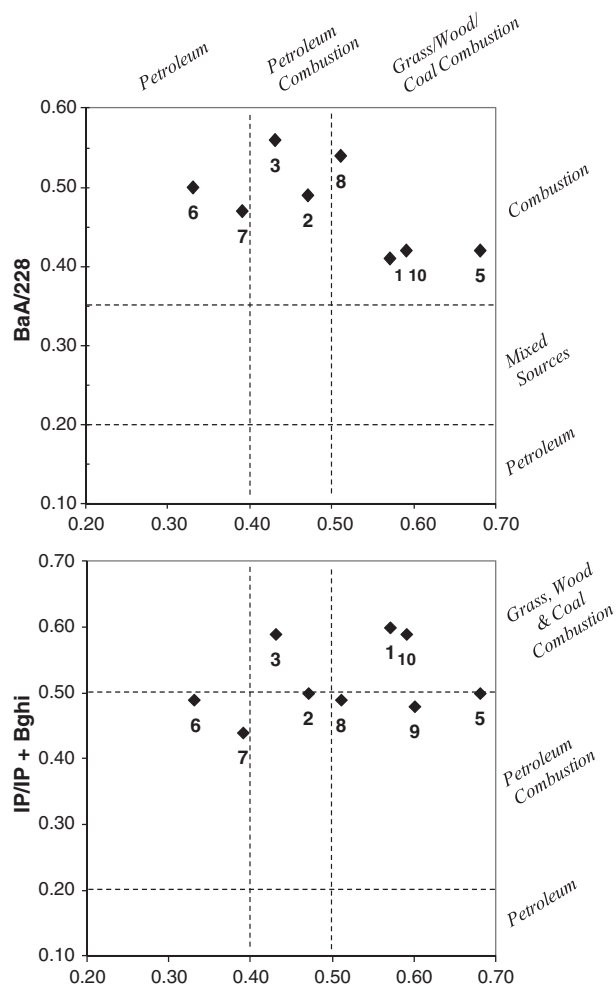


Fig. 3. PAH cross plots for the ratios of (a) An/178 vs. Fl/Fl + Py, (b) BaA/228 vs. Fl/Fl + Py and (c) IP/IP + Bghi vs. Fl/Fl + Py of sediments from Laranjeiras Bay, Brazil.

related to ship traffic to Paranaguá Harbour and the use of small boats in tourism activities. A direct introduction of petroleum or its derivatives probably related to small boats going to Guaqueçaba seems to be one of the PAHs sources in sites 6 and 7. Sewage inputs were not considered to be a significant source of PAHs because detectable levels of faecal sterols were not observed.

High temperatures all year around, high solar intensity and microbial activity in tropical regions, as Laranjeiras Bay, may play an important role in determining the rate at which hydrocarbon degradation proceeds and modifies compound concentrations upon which diagnostic ratios rely (Wagener et al., 2010). These factors may explain the apparent disparities relating to the selected PAH ratios (essentially in sites 6 and 7) since the diagnostic ratios purposed by Yunker et al. (2002), it had considered data obtained in matrices from temperate climate.

Elevated relative concentrations of alkyl homologue series (e.g., C₂, C₃, C₄) may indicate petroleum contamination (Silva and Bicego, 2010). The \sum alkyl PAHs concentration of surface sediments varied from 0.63 to 27.8 ng g⁻¹ (dry weight), and the mean concentration was 7.68 ± 7.33 ng g⁻¹. The alkyl PAHs represented 11.5 to 31.2% (mean ± SD = 20 ± 7) of \sum PAHs, indicating a clear predominance of unsubstituted PAHs. Higher concentrations of unsubstituted PAHs compared to the other alkyl homologues usually indicate a PAH combustion source (Yunker et al., 2002).

The relative high concentration of alkyl PAH in site 8 is related to C₁-naphthalenes (19.9 ng g⁻¹). As isomer pair ratios (BaA/228, IP/IP +

BghiP and Fl/Fl + Py) indicate predominance of PAHs from combustion origin, the high concentration of this alkyl PAHs may be associated to diesel and fuel oil combustion because it may lead to more elevated concentrations of C₁-PAH (Oros and Simoneit, 2000).

Although the majority of PAHs were related to anthropogenic sources, perylene, a singular PAH associated with natural sources of organic matter, was derived from diagenetic processes (Silliman et al., 1998). Relative concentrations of perylene greater than 10% of the \sum PAHs (4–6 rings) are indicative of natural sources (diagenetic input) (Readman et al., 2002). In this study, the percentage of perylene ranged from 13.5 to 65.1%, indicating diagenetic perylene inputs in the sediment. The relatively low values observed at sites 1 and 8, which are located at the entrance of Laranjeiras Bay, were coincident with low TAR values. This was an expected result because the main source of precursors for the formation of perylene is terrestrial organic matter (Silliman et al., 1998), particularly peat, which is transported by rivers and is abundant in the soil and mangrove forests of the study area.

PAHs are considered priority control pollutants by the USA Environmental Protection Agency (USEPA), can cause adverse biological effects (Boll et al., 2010). The PAH concentrations measured in this study were compared to the threshold effect concentrations (TECs) specified by the National Oceanic and Atmospheric Administration (U.S. NOAA) sediment quality guidelines under the National Status & Trends Program (NS&T) as indicators of biological effects (Long et al., 1995). At all of the sites, the individual concentrations of acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benz[a]anthracene, chrysene, benzo[a]pyrene, and dibenz[ah]anthracene did not exceed the TEL levels (Table 5), suggesting that the biological community was not disturbed.

In general, the sediments analysed in this study were considered uncontaminated due to the low levels (<250 ng g⁻¹) of total PAHs (Notar et al., 2001). The PAH concentrations were in the range encountered in pristine regions such as Admiralty Bay, Antarctica (<450 ng g⁻¹) (Martins et al., 2010b), and Qinghai Lake in the Tibetan Plateau (<300 ng g⁻¹) (Wang et al., 2010a). The PAH concentrations were lower than those found in other coastal and estuarine areas that receive substantial anthropogenic inputs from urban and industrial activities. Such areas include the northern Atlantic Ocean near Spain (1400 to 4900 ng g⁻¹) (Antizar-Ladislao, 2009), the Huaihe River in China (60–2230 ng g⁻¹) (Fu et al., 2011), Narragansett Bay (USA) (>1,943,000 ng g⁻¹) (Hartmann et al., 2005) and locations near populated cities in tropical Asian countries (mean = 11,300 ± 12,100 ng g⁻¹; range: 100 to near 100,000 ng g⁻¹) (Saha et al., 2009). Thus, with respect to PAH concentrations, Laranjeiras Bay can be considered a pristine area that has not suffered adverse effects.

The total organic matter content is another important factor that influences the level of organic compounds in sediments (Yan et al., 2009). Long-term variations in the concentrations of organic compounds in sediment may be influenced by the characteristics of the sediment. According to Lamour et al. (2004), the concentration of coarse sediments in the Laranjeiras Bay ranges from 20 to 100%, and the quantity of organic matter is less than 10%. Thus, the large amount of coarse sediments and the low organic matter content in Laranjeiras Bay may be responsible for the limited trapping of sterols and hydrocarbons in the sediment. This may enable them to disperse to other locations.

4.4. Trace metals

Table 6 summarises the concentration of As, Cu, Cr, Ni, Pb and Zn in the sediment samples from Laranjeiras Bay.

The highest concentrations were observed at stations 2, 3 and 6, located in the sub-estuary of Itaqui, near the mouth of the Benito and Guaqueçaba inlets. Thus, the observed differences among

Table 6
Trace elements concentrations in sediment samples from the Laranjeiras Bay (in mg kg⁻¹ dw).

Trace elements/sites	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Mean ± SD	TEL	PEL
As	<u>9.23</u>	<u>20.5</u>	<u>8.72</u>	1.84	4.32	<u>11.0</u>	3.25	2.27	1.81	3.26	6.62 ± 5.62	7.2	41.6
Cr	20.5	43.5	<u>56.1</u>	22.9	23.7	<u>49.2</u>	9.96	9.05	8.25	11.4	25.5 ± 16.9	52.3	160.4
Cu	3.22	5.02	<u>9.86</u>	1.86	6.27	12.6	2.31	2.42	2.47	2.80	4.88 ± 3.48	18.7	108.2
Ni	5.65	9.42	<u>23.2</u>	6.51	10.1	20.3	3.85	3.53	3.37	3.88	8.97 ± 6.79	15.9	42.8
Pb	5.34	9.16	<u>9.19</u>	2.08	7.88	<u>14.7</u>	3.24	3.16	3.26	4.10	6.21 ± 3.77	30.2	112.2
Zn	24.9	41.1	52.1	13.2	32.5	61.2	14.8	12.7	11.3	15.3	27.9 ± 17.2	124.0	271.0

The underlined values correspond to concentrations above the TEL level.

trace element levels may be attributed to the discharge of river systems into the bay. The aforementioned sampling sites are located in an upstream area subject to tide effects, which can cause mixing of marine and river materials.

In the study area, several of the As, Cr and Ni concentrations, which ranged from 1.8 to 20.5, from 8.2 to 56.0 and from 3.3 to 23.1 mg kg⁻¹, respectively, were greater than those observed by Choueri et al. (2009) (Table 6). These levels may be associated to human activity from urbanised regions (Paranaguá city and the adjoining harbour).

The grain size and organic matter distribution could be responsible for the observed differences in trace metal contents (Ip et al., 2007). Within Laranjeiras Bay, the content of fine grain sediment increases in the northward direction. Moreover, clay sediments are preferentially concentrated in the central and southern regions of the Benito inlet (Lamour et al., 2004; Cazati, 2010). In this study, the highest elemental concentrations were observed in regions with high levels of fine grain sediment. Nevertheless, the behaviour of chemical elements must be further investigated, and physico-chemical parameters such as pH, Eh, temperature, salinity, sorption-adsorption capacity and flocculation capacity must be determined.

Sediment quality guidelines (SQGs), including TEL and PEL, are reported in Table 6. According to the SQGs, some of the sediment samples had As, Cr and Ni concentrations between the TEL and PEL values, indicating that adverse biological effects may be occasionally observed in Laranjeiras Bay. However, these occurrences and the nature and severity of their effects cannot be reliably predicted. When chemical contents fall within the aforementioned range, further investigations are recommended to determine if sediment-associated chemicals represent a significant hazard to aquatic organisms (Long et al., 1995).

The data set was compared to the available literature on estuarine regions, especially those in Latin America (Table 7). The results indicate that the trace element contents observed in this study were of the same order of magnitude as those obtained in other estuarine areas.

5. Conclusions

In this study, an integrated assessment of the distribution of organic compounds and trace metals in an Environmental Protection

Area located in the southwestern Atlantic region was conducted. The results show that organic matter originated from a mixture of compounds derived from marine and terrestrial sources and that faecal contribution was absent, based on investigation of coprostanol and epicoprostanol.

In general, the sterol composition of the sediments indicated that the study area is dominated by a mixture of marine and terrestrial sources of organic matter due to its proximity to the mouths of rivers, mangrove forests and the entrance of the bay. Marine sources were associated with the primary production of zooplankton, phytoplankton, diatoms, algae and dinoflagellates. Sterols derived from terrestrial inputs (stigmaterol) were primarily derived from terrestrial organic matter. The presence of relatively fresh organic matter and low rates of bacterial and hydrogenation diagenetic processes in the sediments indicated the predominance of unsaturated sterols with respect to the saturated homologues.

Anthropogenic impacts caused by the introduction of petrol and related derivatives were not verified, as evidenced by an absence of unresolved complex mixtures and low concentrations of alkyl-PAHs. Anthropogenic impacts were primarily associated with mixed combustion sources, including the burning of wood, leaves, grasses and sugar cane during agricultural activities and petroleum and/or its derivatives used in ships and motorboats.

Aliphatic hydrocarbons were associated with natural sources, and long chain biogenic n-alkanes were predominant in sites located in the inner region of Laranjeiras Bay, which is subject to terrestrial inputs. Alternatively, the influence of marine organic matter on the hydrocarbon pool was stronger in the outer regions of the study area.

The highest concentrations of trace metals were observed near the mouths of the Benito and Guaraqueçaba inlets. Some of the sediment samples had As, Cr and Ni concentrations between the TEL and PEL levels that can be associated to human activity from urbanised regions (Paranaguá city and the adjoining harbour). However, future studies comparing elemental concentrations of rocks and sediments in the study area may provide insights on the sources of contamination and the physical and chemical weathering processes in Laranjeiras Bay.

The study area can be classified as pristine; thus, monitoring programmes are required to determine trends, to prevent anthropogenic impacts, and to promote the health of one of the last preserved Atlantic rainforest areas in South America.

Table 7
Trace element ranges (mg kg⁻¹, expressed at the minimum and maximum values) founded in sediments from different study areas worldwide.

Study area	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	As	References
Estuary of São Francisco River, Brazil	15–82	2.0–26	3.0–27	5.0–16	1.0–48	n.a	Sabadini-Santos et al. (2009)
Camamu Bay, Brazil	0.1–30	0.1–2.5	0.1–11	0.3–25	0.4–78	0.2–11	Hatje et al. (2008)
Paranaguá Estuarine Complex, Brazil	15–58	0.1–16	6.7–22	0.3–30	27–81	3.4–8.3	Choueri et al. (2009)
Pearl River Estuary, China	74–123	19–87	22–47	41–92	100–289	n.a	Yu et al. (2010)
Dnieper and Boh estuaries, Ukraine	6.2–378	1.5–138	2.5–40	0.7–23	2.5–650	n.a	Burgess et al. (2009)
Laranjeiras Bay, Brazil	8.2–56	1.8–13	3.3–23	2.1–15	11–61	1.8–21	This study

n.a = not analysed.

Acknowledgements

C.C. Martins wishes to thank CNPq (Brazilian National Council for Scientific and Technological Development) for a research grant (564316/2008-3). This work was an interdisciplinary activity under the ambit of a post-graduate course on estuarine and ocean systems at the Federal University of Paraná.

References

- Aboul-Kassim TAT, Simoneit BRT. Lipid geochemistry of surficial sediments from the coastal environment of Egypt I. Aliphatic hydrocarbons – characterization and sources. *Mar Chem* 1996;54:135–58.
- Antizar-Ladislao B. Polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, phthalates and organotins in northern Atlantic Spain's coastal marine sediments. *J Environ Monit* 2009;11:85–91.
- Bicego MC, Taniguchi S, Yogui GT, Montone RC, Silva DAM, Lourenço RA, et al. Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. *Mar Pollut Bull* 2006;52:1784–832.
- Boll ES, Christensen JH, Holm PE. Quantification and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment, soil, and water spinach from Hanoi, Vietnam. *J Environ Monit* 2010;10:261–9.
- Brandini FP, Fernandes LF. Microalgae of the continental shelf off Paraná state, south-eastern Brazil: a review of studies. *Braz J Oceanogr* 1996;44:69–80.
- Burgess R, Terletskaia AV, Milyukin MV, Terletskaia AV, Milyukinb MV, Povolotskiic M, et al. Concentration and distribution of hydrophobic organic contaminants and metals in the estuaries of Ukraine. *Mar Pollut Bull* 2009;58:1103–15.
- Caccia VG, Millero FJ, Palanques A. The distribution of trace metals in Florida Bay sediments. *Mar Pollut Bull* 2003;46:1420–33.
- Carreira RS, Ribeiro PV, Silva EM, Farias CO. Hydrocarbons and sterols as indicators of source and fate of organic matter in sediments from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro. *Quim Nova* 2009;32:1805–11.
- Cazati CA. Fracionamento do fósforo em sedimentos superficiais do Complexo Estuarino de Paranaguá, MSc Dissertation, 2010;94pp (in Portuguese).
- Choueri RB, Cesar A, Torres RJ, Abessa DMS, Morais RD, Pereira CDS, et al. Integrated sediment quality assessment in Paranaguá System, Southern Brazil. *Ecotoxicol Environ Saf* 2009;72:1824–31.
- Costa TLF, Araújo MP, Knoppers BA, Carreira RS. Sources and distribution of particulate organic matter of a tropical estuarine–lagoon system from NE Brazil as indicated by lipid biomarkers. *Aquat Geochem* 2011;17:1–19.
- Fu J, Ding Y-H, Li L, Sheng S, Wen T, Chen W, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and benthic macrofauna distributions in sediments from the Huaihe River, China. *J Environ Monit* 2011;13:597–604.
- Gorski PR, Cleckner LB, Hurley JP, Sierszen ME, Armstrong DE. Factors affecting enhanced mercury bioaccumulation in inland lakes of Isle Royale National Park, USA. *Sci Total Environ* 2003;304:327–48.
- Hartmann PC, Quinn JG, Cairns RW, King JW. Depositional history of organic contaminants in Narragansett Bay, Rhode Island, USA. *Mar Pollut Bull* 2005;50:388–95.
- Hassett Jr JP, Lee GF. Sterols in natural water and sediment. *Water Res* 1977;11:983–9.
- Hație V, Barros F, Magalhães W, Riatto VB, Amorim FN, Figueiredo MB, et al. Trace metals and benthic macrofauna distributions in Camamu Bay, Brazil: sediment quality prior oil and gas exploration. *Mar Pollut Bull* 2008;56:1–8.
- Hudson ED, Parrish CC, Helleur RJ. Biogeochemistry of sterols in plankton, settling particles and recent sediments in a cold ocean ecosystem (Trinity Bay, Newfoundland). *Mar Chem* 2001;76:253–70.
- Ip CCM, Li X-D, Zhang G, Waia OWH, Lia Y-S. Trace metal distribution in sediments of the Pearl River Estuary and the surrounding coastal area, South China. *Environ Pollut* 2007;147:311–23.
- Kawakami SK, Montone RC. An efficient ethanol-based analytical protocol to quantify fecal steroids in marine sediments. *J Braz Chem Soc* 2002;13:226–32.
- Koch BP, Harder J, Lara RJ, Kattner G. Evaluation of triterpenols and sterols as organic matter biomarkers in a mangrove ecosystem in northern Brazil. *Wetlands Ecol Manage* 2003;11:257–63.
- Lamour MR, Soares CR, Carrilho JC. Textural parameters maps of bottom sediments on Paranaguá Bay Complex – PR. *Bol Par Geoc* 2004;55:77–82.
- Lana PC, Marone E, Lopes RM, Machado EC. The subtropical estuarine complex of Paranaguá Bay, Brazil. In: Seeliger U, Lacerda LD, Kjerfve B, editors. Coastal marine ecosystems of Latin America; 2001. p. 131–45.
- Langston WJ, Jonas PJC, Millward GE. The severe estuary and Bristol Channel: a 25 year critical review. *Mar Pollut Bull* 2010;61:1–4.
- Laureillard J, Salot A. Biomarkers in organic matter produced in estuaries: a case study of the Krka estuary (Adriatic Sea) using the sterol marker series. *Mar Chem* 1993;43:247–61.
- Loh AN, Canuel EA, Bauer JE. Potential source and diagenetic signatures of oceanic dissolved and particulate organic matter as distinguished by lipid biomarker distributions. *Mar Chem* 2008;112:189–202.
- Long ER, MacDonald DD, Smith SL, Calder FD. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ Manage* 1995;19:81–97.
- Luiz-Silva W, Machado W, Matos RHR. Multi-elemental contamination and historic record in sediments from the Santos–Cubatão Estuarine System, Brazil. *J Braz Chem Soc* 2008;19:1490–500.
- Martins CC, Mahiques MM, Bicego MC, Fukumoto MM, Montone RC. Comparison between anthropogenic hydrocarbons and magnetic susceptibility in sediment cores from the Santos Estuary, Brazil. *Mar Pollut Bull* 2007;54:240–6.
- Martins CC, Bicego MC, Rose NL, Taniguchi S, Lourenço RA, Figueira RCL, et al. Historical record of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and spheroidal carbonaceous particles (SCPs) in marine sediment cores from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Environ Pollut* 2010a;158:192–200.
- Martins CC, Braun JAF, Seyffert BH, Machado EC, Fillmann G. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá Estuarine System, Brazil). *Mar Pollut Bull* 2010b;60:2137–43.
- Martins CC, Seyffert BH, Braun JAF, Fillmann G. Input of organic matter in a large South American tropical estuary (Paranaguá Estuarine System, Brazil) indicated by sedimentary sterols and multivariate statistical approach. *J Braz Chem Soc* 2011;2:1585–94.
- Mater L, Alexandre MR, Hansel FA, Madureira LAS. Assessment of lipid compounds and phosphorus in mangrove sediments of Santa Catarina Island, SC, Brazil. *J Braz Chem Soc* 2004;15:725–34.
- Medeiros PM, Bicego MC, Castelhão RM, Del Rosso C, Fillmann G, Zamboni AJ. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Environ Int* 2005;31:77–87.
- Montone RC, Martins CC, Bicego MC, Taniguchi S, Silva DAM, Campos LS, et al. Distribution of sewage input in marine sediments around a maritime Antarctic research station indicated by molecular geochemical indicators. *Sci Total Environ* 2010;408:4665–71.
- Muniz P, Pires-Vanin AMS, Martins CC, Montone RC, Bicego MC. Trace metals and organic compounds in the benthic environment of a subtropical embayment (Ubatuba Bay, Brazil). *Mar Pollut Bull* 2006;52:1090–117.
- Noernberg MA, Angelotti R, Caldeira GA, Sousa AFR. Environmental sensitivity assessment of Paraná coast for oil spill. *Braz J Aquat Sci Technol* 2008;12:49–59.
- Notar M, Leskovsek H, Faganeli J. Composition, distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of the Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea. *Mar Pollut Bull* 2001;42:36–44.
- Oren A, Aizenshtat Z, Chefetz B. Persistent organic pollutants and sedimentary organic matter properties: a case study in the Kishon River, Israel. *Environ Pollut* 2006;141:256–74.
- Oros DR, Ross JRM. Polycyclic aromatic hydrocarbons in San Francisco Estuary sediments. *Mar Chem* 2004;86:169–84.
- Oros DR, Simoneit BRT. Identification and emission rates of molecular tracers in coal smoke particulate matter. *Fuel* 2000;79:515–36.
- Peters KE, Walters CC, Moldowan JM. The biomarker guide vols. 1 & 2. 2nd edition. Cambridge: Cambridge University Press; 2005.
- Prieto A, Zuloaga O, Usobiaga A, Bartolomé L, Fernández LA, Etxebarria N, et al. Levels and spatial distribution of inorganic and organic contaminants in sediments along the Bilbao estuary. *Mar Pollut Bull* 2008;56:2094–9.
- Readman JW, Fillmann G, Tolosa I, Bartocci J, Villeneuve J-P, Cattini C, et al. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. *Mar Pollut Bull* 2002;44:48–62.
- Sabadini-Santos E, Knoppers BA, Oliveira EP, Leipe T, Santelli RE. Regional geochemical baselines for sedimentary metals of the tropical São Francisco estuary, NE-Brazil. *Mar Pollut Bull* 2009;58:601–6.
- Saha M, Togo A, Mizukawa K, Murakami M, Takada H, Zakaria MP, et al. Sources of sedimentary PAHs in tropical Asian waters: differentiation between pyrogenic and petrogenic sources by alkyl homolog abundance. *Mar Pollut Bull* 2009;58:189–200.
- Santos IR, Silva-Filho EV, Schaefer CE, Albuquerque-Filho MR, Campos LS. Heavy metals contamination in coastal sediments and soils near the Brazilian Antarctic Station, King George Island. *Mar Pollut Bull* 2005;50:185–94.
- Silliman JE, Meyers PA, Eadie BJ. Perylene: an indicator of alteration processes or precursor materials? *Org Geochem* 1998;29:1737–44.
- Silva DAM, Bicego MC. Polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum biomarkers in São Sebastião Channel, Brazil: assessment of petroleum contamination. *Mar Environ Res* 2010;69:277–86.
- Steinhauer MS, Boehm PD. The composition and distribution of saturated and aromatic hydrocarbons in nearshore sediments, river sediments, and coastal peat of Alaskan Beaufort Sea: implications for detecting anthropogenic hydrocarbon inputs. *Mar Environ Res* 1992;33:223–53.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). SW-846 test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods, method 3050B. Acid digestion of sediments, sludges and soil; 1996.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). SW-846 test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods, method 6010C: inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry; 2007.
- Villeneuve J-P, Mora SJ, Cattini C, Carvalho FP. Determination of organochlorinated compounds and petroleum hydrocarbons in sediment sample IAEA-408. Results from a worldwide intercalibration exercise. *J Environ Monit* 2000;2:524–8.
- Volkman JK. Sterols and other triterpenoids: source specificity and evolution of biosynthetic pathways. *Org Geochem* 2005;36:139–59.
- Volkman JK, Holdworth DG, Neill GP, Bavor HJ. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *Sci Total Environ* 1992;112:203–19.
- Volkman JK, Barret SM, Blackburn SI, Mansour MP, Sikes EL, Gelin F. Microalgal biomarkers: a review of recent research developments. *Org Geochem* 1998;29:1163–79.
- Wade TL, Cantillo AY. Use of standards and reference materials in the measurement of hydrocarbon residues. Chemistry workbook. NOAA technical memorandum NOS ORCA 77. Maryland: Silver Spring; 1994.
- Wagner A, Hamacher C, Farias C, Godoy JM, Scofield A. Evaluation of tools to identify hydrocarbon sources in recent and historical sediments of a tropical bay. *Mar Chem* 2010;121:67–79.

- Wakeham SG, Canuel EA. Degradation and preservation of organic matter in sediments. In: Volkman JK, editor. Handbook of environmental chemistry, v 2: reactions and processes 2 (N). Berlin: Springer; 2006. p. 295–321.
- Wang Z, Fingas M, Sigouin L. Characterization and identification of a “mystery” oil spill from Quebec (1999). *J Chromatogr A* 2001;909:155–69.
- Wang X, Yang H, Gong P, Zhao X, Wu G, Turner S, et al. One century sedimentary records of polycyclic aromatic hydrocarbons, mercury and trace elements in the Qinghai Lake, Tibetan Plateau. *Environ Pollut* 2010a;158:3065–70.
- Wang J-Z, Guan Y-F, Ni H-G, Liub G-J, Zeng EY. Fecal steroids in riverine runoff of the Pearl River Delta, South China: levels, potential sources and inputs to the coastal ocean. *J Environ Monit* 2010b;12:280–6.
- Yan W, Chi J, Wang Z, Huang W, Zhang G. Spatial and temporal distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Daya Bay, South China. *Environ Pollut* 2009;157:1823–30.
- Yang Z, Feng J, Niu J, Shen Z. Release of polycyclic aromatic hydrocarbons from Yangtze River sediment cores during periods of simulated resuspension. *Environ Pollut* 2008;155:366–74.
- Yu X, Yan Y, Wang WX. The distribution and speciation of trace metals in surface sediments from the Pearl River Estuary and the Daya Bay, Southern China. *Mar Pollut Bull* 2010;60:1364–71.
- Yunker MB, Macdonald RW. Alkane and PAH depositional history, sources and fluxes in sediments from Fraser River basin and Strait of Georgia, Canada. *Org Geochem* 2004;34:1429–54.
- Yunker MB, Macdonald RW, Vingarzan R, Mitchell RH, Goyette D, Sylvestre S. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Org Geochem* 2002;33:489–515.