

CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DE MATERIAIS DE REFERÊNCIA INTERNA PARA ANÁLISE DE FENÓIS MARCADORES DE LIGNINA

Yogui, G. T.^{1,2}; Ribas, L. M.^{1,3}; Rezende, C. E.^{1,4}

¹ Laboratório de Ciências Ambientais (LCA), Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Av. Alberto Lamego 2000, Campos dos Goytacazes, RJ, CEP: 28013-602.

² gtyogui@uenf.br. ³ ligiamribas@yahoo.com.br. ⁴ crezende@uenf.br

RESUMO

A indisponibilidade comercial de materiais de referência certificados para análise de lignina torna importante o desenvolvimento de materiais de referência interna, a fim de garantir a qualidade das análises geoquímicas de um laboratório. Este trabalho apresenta a caracterização preliminar de fenóis marcadores de lignina em amostras de sedimento e solo coletadas no litoral norte fluminense. As análises foram feitas em cromatógrafo a gás equipado com detetor por ionização em chama (GC-FID). Quantitativamente, os resultados preliminares são semelhantes a valores encontrados no litoral sul fluminense. Em termos composicionais, os resultados sugerem que a matéria orgânica dos solos possuem um grau mais avançado de alterações diagenéticas do que os sedimentos. A próxima etapa do estudo será a confirmação desta caracterização preliminar através de um segundo método analítico independente.

Palavras chave: matéria orgânica, sedimento, solo

INTRODUÇÃO

A lignina é um polímero fenólico de elevado peso molecular e grande estabilidade química que ocorre basicamente em vegetais superiores (HEDGES & MANN, 1979). Sua reação com oxidantes fracos em meio alcalino produz monômeros fenólicos que mantêm os mesmos padrões de substituição do polímero da lignina (HEDGES & PARKER, 1976). Assim, tais fenóis podem ser usados como indicadores da quantidade e composição de lignina no material amostrado (HEDGES & PARKER, 1976). Em estudos de geoquímica marinha, esses fenóis têm sido empregados como traçadores de matéria orgânica de origem continental, visto que plantas vasculares têm distribuição geográfica limitada a ambientes costeiros.

A qualidade de uma análise química é muito importante para garantir a confiabilidade de seus resultados. Entre as amostras incluídas no controle de qualidade de um lote de análise destaca-se um material de referência, isto é, uma amostra que contém concentrações conhecidas dos analitos de interesse. No caso dos fenóis de lignina, não há materiais de referência disponíveis comercialmente. Entretanto, laboratórios de pesquisa costumam promover intercâmbio de amostras para a realização de exercícios informais de intercalibração, incentivando o desenvolvimento de materiais de referência para serem utilizados em âmbito interno (Richard Kiel, comunicação pessoal). O objetivo deste trabalho é caracterizar amostras de sedimento e solo para serem empregadas como material de referência interna em análises de fenóis marcadores geoquímicos de lignina.

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais de referência preliminarmente caracterizados neste estudo são duas amostras de sedimento e duas de solo (Tab. 1). Os sedimentos foram coletados no estuário do Rio Paraíba do Sul (RPS), enquanto as amostras de solo são provenientes da porção inferior da bacia do RPS no Norte Fluminense. O procedimento de coleta e preparação das amostras de referência está descrito em PEREIRA (2006). As análises químicas foram baseadas em HEDGES & ERTEL (1982) e GOÑI & MONTGOMERY (2000). Sucintamente, a amostra foi oxidada em meio alcalino em um sistema de digestão por microondas. A fase aquosa foi acidificada e extraída com acetato de etila. Em seguida, a fase orgânica foi filtrada em sulfato de sódio anidro, sendo o solvente posteriormente evaporado. O extrato foi redissolvido em piridina e armazenado em freezer a -20 °C.

Antes da injeção no cromatógrafo, a amostra foi derivada com uma solução de BSTFA:TMCS (99:1, v/v). A análise dos fenóis de lignina foi feita em cromatógrafo a gás equipado com detetor por ionização em chama (GC-FID). A coluna capilar empregada foi a DB-

1 (30 m × 0,32 mm × 1 •m). A injeção da amostra foi feita em injetor sem divisão de fluxo (*splitless*). A temperatura inicial do forno do cromatógrafo foi ajustada em 100 °C, elevando-se a uma taxa de 4 °C min⁻¹ até 260 °C. Após atingir esta temperatura, a taxa de elevação passou a ser de 10 °C min⁻¹ até 300 °C, permanecendo nesta temperatura durante 10 minutos.

Tabela 1. Coordenadas geográficas dos locais de amostragem e conteúdo de carbono orgânico das amostras. Fonte: PEREIRA (2006).

Material de Referência Interna	Local de Amostragem	Carbono Orgânico (%)
<i>Sedimento</i>		
Banco de lama	21° 36' S, 041° 01' W	2,0
Manguezal	21° 36' S, 041° 13' W	3,3
<i>Solo</i>		
Pasto	21° 47' S, 041° 32' W	11,5
Plantação de cana-de-açúcar	21° 47' S, 041° 31' W	1,9

A identificação dos analitos foi baseada em seus respectivos tempos de retenção, enquanto a quantificação foi feita com base nas áreas dos picos e calculada através do método de padronização interna. O controle de qualidade das análises seguiu critérios usados em programas internacionais de monitoramento ambiental de contaminantes orgânicos (ver LAUENSTEIN & CANTILLO, 1998). A recuperação dos fenóis de lignina em duas amostras previamente fortificadas com esses compostos foi de 102 ± 17% (média ± desvio padrão). Já a diferença percentual relativa entre duas amostras analisadas em replicata foi de 8,9 ± 8,0% (média ± desvio padrão). Todos os resultados foram normalizados em relação ao conteúdo de carbono orgânico (CO) das amostras, sendo o limite de detecção de 0,03 mg 100 mg⁻¹ CO.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os oito fenóis utilizados como marcadores geoquímicos de lignina podem ser divididos em três grupos: vanililas (vanilina, acetovanilona e ácido vanílico), siringilas (siringaldeído, acetosiringona e ácido siringico) e cinamilas (ácido *trans-p*-cumárico e ácido *trans*-ferúlico). A concentração desses fenóis nas amostras de sedimento e solo pode ser observada na Tab. 2. Os valores normalizados em relação ao conteúdo de carbono orgânico estão expressos em miligramas de fenol de lignina por 100 miligramas de carbono orgânico. Esta unidade de concentração é comumente usada na interpretação dos marcadores de lignina (e.g., BIANCHI *et al.*, 2002) e reflete o percentual de um composto em relação ao carbono orgânico total da amostra. Tal normalização também retira a variabilidade da composição dos fenóis de lignina atribuída aos sedimentos e solos com diferentes composições granulométricas.

Tabela 2. Concentração de fenóis marcadores geoquímicos de lignina em amostras de sedimento e solo empregadas como material de referência interna.

Fenol de Lignina	Concentração (mg 100 mg ⁻¹ CO)			
	Sedimento			Solo
	Lama	Manguezal	Cana	Pasto
vanilina	0,60	0,65	0,15	0,23
acetovanilona	0,14	0,17	0,06	0,11
ácido vanílico	0,59	0,30	0,15	0,24
siringaldeído	0,77	0,79	0,12	0,13
acetosiringona	0,21	0,27	0,07	0,07
ácido siringico	0,23	0,29	0,11	0,23
ácido <i>trans-p</i> -cumárico	0,45	0,39	0,14	0,28
ácido <i>trans</i> -ferúlico	0,35	0,32	0,13	0,38
Total	3,34	3,18	0,93	1,67

Os resultados preliminares indicam que os sedimentos possuem maior concentração de fenóis de lignina do que os solos (localmente usados pela atividade agropecuária). Tal fato é bastante razoável, visto que o estuário do RPS possui áreas de manguezal e recebe a descarga fluvial de uma extensa bacia hidrográfica. Além disso, os solos amostrados sofrem constantes queimadas que contribuem para que uma parcela apreciável do carbono (e outros elementos) presente na matéria orgânica do solo seja transferida para a atmosfera, restando somente o carbono negro. O somatório dos marcadores de lignina encontrado nos sedimentos

é semelhante aos valores encontrados em sedimentos de mangue da Baía de Sepetiba, RJ (REZENDE, 1993). A presença de compostos vanílicos (V), siríngicos (S) e cinâmicos (C) em todas as amostras indica a contribuição de material lenhoso e foliar de plantas vasculares na composição de sedimentos e solos locais. Entretanto, a elevada razão C/V das amostras (0,6-1,1) sugere maior contribuição de tecido foliar de angiospermas. A razão entre ácidos e aldeídos de compostos vanílicos (ácido vanílico/vanilina) e siríngicos (ácido siríngico/siringaldeído) pode ser usada para avaliar o estado diagenético do material sedimentar, visto que aldeídos são transformados em ácidos carboxílicos durante a diagênese oxidativa (REQUEJO *et al.*, 1986). A razão entre ácidos e aldeídos foi mais elevada nas amostras de solo (0,9-1,8) do que nas amostras de sedimento (0,3-1,0), sugerindo transformações diagnéticas mais avançadas no material sedimentar dos solos. De acordo com HEDGES *et al.* (1988), essa reatividade da matéria orgânica geralmente é acompanhada por uma redução na concentração total de fenóis de lignina e uma diminuição na razão S/V. Tais tendências podem ser observadas na comparação entre as amostras de solo e sedimento deste estudo (Tab. 2).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, a caracterização preliminar dos materiais de referência interna apresentou resultados coerentes tanto em termos composicionais quanto quantitativos. O procedimento laboratorial demonstrou estar dentro de padrões analíticos de precisão e exatidão. Na próxima etapa será feita a comparação desses resultados com a análise das mesmas amostras por grupos de pesquisa colaboradores, utilizando métodos analíticos independentes.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebeu suporte financeiro dos seguintes programas/órgãos de fomento: CAPES/PRODOC (Processo: 0213/08-0), FAPERJ e CNPq/INCT de Transferência de Materiais Continente-Oceano (Processo: 573.601/2008-9).

REFERÊNCIAS

- BIANCHI, T. S.; MITRA, S.; MCKEE, B. A. 2002. Sources of terrestrially-derived organic carbon in lower Mississippi River and Louisiana shelf sediments: implications for differential sedimentation and transport at the coastal margin. *Marine Chemistry*, 77: 211-223.
- GOÑI, M. A.; MONTGOMERY, S. 2000. Alkaline CuO oxidation with a microwave digestion system: lignin analyses of geochemical samples. *Analytical Chemistry*, 72: 3116-3121.
- HEDGES, J. I.; CLARK, W. A.; COWIE, G. L. 1988. Fluxes and reactivities of organic matter in a coastal marine bay. *Limnology and Oceanography*, 33: 1137-1152.
- HEDGES, J. I.; ERTEL, J. R. 1982. Characterization of lignin by gas capillary chromatography of cupric oxide oxidation products. *Analytical Chemistry*, 54: 174-178.
- HEDGES, J. I.; MANN, D. C. 1979. Characterization of plant tissues by their lignin oxidation products. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 43: 1803-1807.
- HEDGES, J. I.; PARKER, P. L. 1976. Land-derived organic matter in surface sediments from the Gulf of Mexico. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 40: 1019-1029.
- LAUENSTEIN, G. G.; CANTILLO, A. Y. 1998. Sampling and analytical methods of the National Status and Trends Program Mussel Watch Project: 1993-1996 update. *NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 130*, Silver Spring, 233pp.
- PEREIRA, L. S. 2006. Melhoramento e harmonização de técnicas de extrações total e pseudo-total através da determinação de metais pesados em amostras certificadas visando a produção e caracterização de solos e sedimentos de referência interna. *Monografia de Graduação*, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 85pp.
- REQUEJO, A. G.; BROWN, J. S.; BOEHM, P. D. 1986. Lignin geochemistry of sediments from the Narragansett Bay estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 50: 2707-2717.
- REZENDE, C. E. 1993. Origem, transporte e destino da matéria orgânica na interface fluvio-marinha, sob diferentes condições de uso do solo e sua relação com o trânsito de poluentes metálicos na Baía de Sepetiba – RJ. *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 160pp.