



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOQUÍMICA:
PETRÓLEO E MEIO AMBIENTE – POSPETRO**

LILIANE SANTOS DE ARAÚJO

**ORIGENS, FONTES, DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL EM
SEDIMENTOS E BIOACUMULAÇÃO DE HPAs EM *Ucides cordatus* NOS
ESTUÁRIOS DOS RIOS SÃO PAULO E JAGUARIFE, BAÍA DE TODOS OS
SANTOS, BAHIA**

LILIANE SANTOS DE ARAÚJO

**ORIGENS, FONTES, DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL EM
SEDIMENTOS E BIOACUMULAÇÃO DE HPAs EM *UCIDES CORDATUS* NOS
ESTUÁRIOS DOS RIOS SÃO PAULO E JAGUARIBE, BAÍA DE TODOS OS
SANTOS, BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente – POSPETRO, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo de Oliveira Mafalda
Júnior

Orientador: Prof. Dr. Ícaro Thiago Andrade Moreira

Salvador
2016

LILIANE SANTOS DE ARAÚJO

pegar original com naná após eu autorizar a impressão

Origens, fontes, distribuição espaço-temporal em sedimentos e bioacumulação de HPAs em *Ucides cordatus* nos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe, Baía de Todos os Santos, Bahia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente – POSPETRO, Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Mafalda de Oliveira júnior (Orientador – Presidente)

Instituto de Biologia – Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Ícaro Thiago Andrade Moreira (Orientador)

Instituto de Geociências – Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. José Ângelo

Instituto de Geociências – Universidade Federal da Bahia

Prof^a. Dr. Danusia Ferreira Lima

Instituto de Geociências – Universidade Federal da Bahia

lembre que no verso deverá ir a ficha catalográfica, sem contar como pág

AGRADECIMENTOS

A Deus pelos anjos de luz que sempre coloca em meus caminhos, a minha família pelo apoio incondicional.

Aos meus orientadores (Ícaro Moreira e Paulo Mafalda) pela ajuda e confiança.

A toda equipe técnica do Núcleo de Estudos Ambientais (NEA), principalmente a Marcos Almeida (Marcão) pelas dicas e por sempre tirar minhas dúvidas, muitíssimo obrigada.

A Iasmin Gargur, companheira das “aventuras” nos manguezais e pela ajuda em boa parte do trabalho.

A todos meus colegas e amigos, principalmente a Joice, Jeferson, Karen e Carlito por me fazerem rir e me ajudarem sempre, e fizeram desta jornada algo mais leve e agradável.

A Dante pelo apoio e companheirismo sempre, muito obrigada!!

Ao Laboratório de Física Nuclear, em especial a José Roberto, que permitiu que eu utilizasse um dos laboratórios para desenvolver o projeto, que foi fundamental para a conclusão da pesquisa.

A CAPES pela concessão da bolsa e a UFBA pela oportunidade e experiência que foram fundamentais para minha formação profissional.

Dedico esse trabalho aos meus pais: Edileuza e Valtemir

RESUMO

Grande parte dos manguezais tornam-se receptores de resíduos resultantes de atividades antrópicas. Um dos contaminantes resultantes dessas ações são os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) que, devido à sua característica lipofílica, são absorvidos por meio dos tecidos biológicos dos organismos marinhos. Este estudo objetiva a determinação dos HPAs prioritários, naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo (a) fluoranteno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, indeno (1,2,3- cd) pireno, dibenzo (a,h) antraceno e benzo (g,h,i) perileno nos sedimentos e no hepatopâncreas do caranguejo da espécie *Ucides cordatus* (Linnaeus 1763) (caranguejo Uçá), fonte econômica para as populações locais, possibilitando a determinação da qualidade do sedimento do manguezal, além de indicar a qualidade do pescado consumido na região, através da análise de HPAs. Para isto, foi realizada em agosto de 2014 uma coleta no estuário do rio São Paulo em cinco pontos distribuídos ao longo do manguezal, sendo coletados quatro amostras por ponto, totalizando vinte unidades amostrais de caranguejos que foram utilizados posteriormente nos testes para redução de lipídios do hepatopâncreas. Em seguida, foi concretizada nos estuário dos rios São Paulo e Jaguaripe duas coletas em dois períodos diferentes do ciclo de vida do caranguejo Uçá: no período reprodutivo, em dezembro de 2015 e no período da ecdise (muda), no mês de agosto de 2015. Estas coletas foram formadas por cinco pontos amostrais, onde foram coletados quatro unidades em cada ponto, totalizando vinte unidades amostrais de caranguejos. O sedimento foi coletado no fundo das galerias do caranguejo Uçá, em duas réplicas por ponto, totalizando 10 elementos amostrais de sedimentos ao longo do estuário. Foram realizados testes metodológicos para verificar a melhor eficácia no processo de redução do teor de lipídios no hepatopâncreas do *Ucides cordatus*. Foram realizadas análises estatísticas descritivas, inferenciais e multivariadas para os dados ambientais e biológicos através dos programas Bioestat e Canoco. Os resultados obtidos para o sedimento no estuário do rio Jaguaripe mostraram um maior teor de HPAs com valores que variaram de 3,38 a 189,02 ng g⁻¹ e no estuário do rio São Paulo de 3,00 a 128,63 ng g⁻¹.

PALAVRAS-CHAVE: *Ucides cordatus*, caranguejo Uçá, hepatopâncreas, bioacumulação, sedimento

ABSTRACT

Many of the mangroves became waste receivers resulting from human activities. One of contaminants resulting from these actions are the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) that due to its lipophilic character, are absorbed by biological tissues from marine organisms. This study aims to determine the level of PAHs in sediment and in the hepatopancreas from the crab of the species *Ucides cordatus* (Linnaeus 1763) (crab Uçá), economic source for the local population, making it possible to determine the quality of the mangrove sediment, and indicate the quality of the fish consumed in the region by PAHs analysis. For this, was held in August 2014 a pickup in the estuary of São Paulo River in five points distributed along the mangroves, being collected four samples per point, totaling twenty sampling units that were later used in tests for lipid reduction of the hepatopancreas. Then it was realized in the estuary of the rivers São Paulo and Jaguaripe two collections in two different periods of Uçá crab's life cycle: the reproductive period, in December 2015 and the period of moulting (changes) in the month of August 2015 . These collections were formed by five sampling points, which were collected four units at each point, totaling twenty sampling units. The sediment was collected at the bottom of the Uçá crab galleries in two replicates per point, totaling 10 sampling units of sediments along the estuary. Methodological tests were conducted to verify the best efficiency in the process of reducing the lipid content in the hepatopancreas of the *Ucides cordatus*, in addition to the quality control testing to ensure the accuracy of the results. Analyses were performed with descriptive statistics, inferential and multivariate analyzes for environmental and biological data through Bioestat and Canoco programs.

KEYWORDS: *Ucides cordatus*, crab Uçá, hepatopancreas, bioaccumulation, sediment

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVO GERAL.....	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
3.1	ÁREA DE ESTUDO	12
3.1.1	Estuário do Rio São Paulo	13
3.1.2	Estuário do Rio Jaguaripe.....	13
3.2	ÁREA DE AMOSTRAGEM E COLETA	13
3.2.1	Coleta do <i>Ucides cordatus</i>	14
3.2.2	Coleta do sedimento	14
3.3	PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS	14
3.3.1	Limpeza da vidraria.....	14
3.3.2	Biometria e tratamento das amostras do <i>Ucides cordatus</i>	15
3.4	ANÁLISES DE HPAS NO UCIDES CORDATUS	15
3.4.1	Extração soxhlet	15
3.4.2	Cromatografia de adsorção.....	16
3.4.5	Tratamento e análises das amostras de sedimento.....	16
3.4.6	Granulometria.....	16
3.4.7	Carbono Orgânico Total	17
3.4.8	HPAs no sedimento	17
3.5	TRATAMENTO DO MATERIAL UTILIZADO NAS ANÁLISES	17
3.5.1	Controle de qualidade.....	17
3.5.2	Análise estatística	18
4	AVALIAÇÃO DE HPAS NOS SEDIMENTOS DOS ESTUÁRIOS: RIOS SÃO PAULO E JAGUARIFE, BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA .	19
4.1	INTRODUÇÃO.....	20
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.2.1	Área de amostragem e coleta.....	21
4.2.2	Estuário do rio São Paulo	21
4.2.3	Estuário do rio Jaguaripe	22
4.2.4	Tratamento das amostras e análises de HPAs	23
4.2.5	Tratamento do material para etapa de clean up	23

4.2.6	Determinação de HPAs no sedimento	24
4.2.7	Etapa de purificação dos extratos	24
4.2.8	Identificação das origens dos HPAs	24
4.2.9	Tratamento estatístico.....	25
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.3.1	Caracterização geoquímica do sedimento	25
4.3.2	Determinação de HPAs nos sedimentos.....	28
4.3.3	Análises de componentes principais para sedimento	29
4.3.4	Origem dos HPAs.....	31
4.4	CONCLUSÕES	33
5	BIOACUMULAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS	
	AROMÁTICOS NO <i>UCIDES CORDATUS</i> NOS ESTUÁRIOS DOS RIOS	
	SÃO PAULO E JAGUARIBE, BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA .	34
5.1	INTRODUÇÃO	35
5.2	MATERIAIS E METÓDOS	36
5.2.1	Área de amostragem e coleta.....	36
5.2.2	Biometria e tratamento das amostras.....	36
5.2.3	Análise de HPAs no <i>Ucides cordatus</i>	38
5.2.4	Extração soxhlet	39
5.2.5	Experimentos da etapa de purificação	39
5.2.6	Cromatografia de adsorção	40
5.2.7	Cálculo para redução de lípidos	41
5.2.8	Controle de qualidade.....	41
5.2.9	Tratamento estatístico.....	41
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.3.1	Testes de purificação	42
5.3.2	Determinação de HPAS no hepatopâncreas	43
5.3.3	Análise de componentes principais para hepatopâncreas.....	44
5.3.4	Análise de redundância de HPAs e biometria	46
5.4	CONCLUSÕES	47
6	CONCLUSÕES GERAIS	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

Os manguezais são ecossistemas de transição entre o ambiente terrestre e marinho, fornece habitat propício ao desenvolvimento de uma complexa teia alimentar. Possui características peculiares como o solo inconsolidado, a ação das marés e a presença de gases que resultam no desenvolvimento de poucas espécies da flora, destacando-se as espécies *Rhizophora mangle* (mangue vermelho), *Laguncularia racemosa* (mangue branco) e *Avicennia schaueriana* (mangue preto) (POLIDORO et al., 2010; TÁVORA, 2011).

No entanto, sua fauna é ampla, composta desde microrganismos como fungos e bactérias até a macrofauna como aves, reptéis, mamíferos. Uma das espécies importantes para o equilíbrio do ecossistema manguezal é o crustáceo da espécie *Ucides cordatus* (Linnaeus 1763), pertencente a ordem Decapóda, inserido na família Ocypodidae e subfamília Ocypodinae (MELO, 1996), é conhecido como caranguejo Uçá, uma espécie muito utilizada como bioindicador devido sua capacidade de acumular contaminantes em suas estruturas corpóreas, além de contribuir para o equilíbrio deste ecossistema por meio de sua atividade alimentícia que gera resíduos das folhas que são degradados por microrganismos resultando nutrientes para a cadeia alimentar (NUDI et al., 2007).

O caranguejo Uçá, assim como outros grupos de vertebrados e invertebrados possuem um metabolismo que biotransformam os HPAs em compostos mais solúveis e de fácil excreção, por duas fases: hidroxilação, que resultam em compostos que podem provocar danos ao DNA, proteínas e membranas do indivíduo (ORBEA et al., 2002; SETTE et al., 2013) e a fase de conjugação que é caracterizada como a fase de desintoxicação, aumentando a solubilidade do contaminante que são acumulados na bile ou excretados pela urina (SETTE et al., 2013).

No entanto, muitos manguezais tornaram-se receptores dos resíduos de atividades antrópicas como o uso de fertilizantes, vazamentos de óleos e efluentes, esgotamento sanitário, aquicultura e rejeitos industriais, que por consequência trazem danos ao ambiente e a biota, além de ocasionar perda econômica e alteração na paisagem (OFIARA; SENECA, 2006). Atividades relacionadas ao petróleo como o refino, transporte e armazenamento também são fontes poluidoras.

Mundialmente, apenas a atividade de transporte deste material lança no ambiente cerca de 100.000 toneladas de hidrocarbonetos por ano (WALKER et al., 2003) que resulta na liberação de contaminantes para o receptor hídrico, como os Hidrocarbonetos

Policíclicos Aromáticos (HPAs) que são persistentes no ambiente e possuem baixa solubilidade em água (CARUSO et al., 2008).

Os HPAs podem ser de origem biogênica, quando são formados de alterações naturais na matéria orgânica ou de fontes antropogênicas quando são resultantes da combustão incompleta de material orgânico (pirolítica) ou oriundos da combustão incompleta de hidrocarbonetos presentes no petróleo (petrogênica) (XU et al., 2012).

Desse modo, os perigos resultantes da toxicidade dos HPAs são reconhecidos por órgãos nacionais e internacionais. De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), dezesseis compostos de HPAs são indicados como prioritários devido a sua toxicidade, persistência e predominância no meio ambiente, denominados como: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo (a) fluoranteno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, indeno (1,2,3- cd) pireno, dibenzo (a,h) antraceno e benzo (g,h,i) perileno (AZEVEDO; ARAÚJO; SILVA, 2013).

Assim, a relevância deste trabalho baseia-se na possível indicação de contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nos manguezais dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe, ambos localizados na Baía de Todos os Santos (BTS), por meio da determinação de HPAs no sedimento e na estrutura corpórea (hepatopâncreas) do *Ucides cordatus*, devido a liberação de nutrientes desta estrutura para todo o corpo do animal. Podendo, desta forma, contribuir para discussões sobre o estado de conservação desta área costeira.

2 OBJETIVOS

Os objetivos foram divididos em geral e específicos como segue abaixo.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a concentração de HPAs no hepatopâncreas do caranguejo Uçá e nos sedimentos coletados nos estuários do rio São Paulo e do rio Jaguaripe, Baía de Todos os Santos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a distribuição espacial de HPAs nos sedimentos dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe;
- avaliar a origem dos HPAs nos sedimentos e no hepatopâncreas nestes estuários;
- investigar a bioacumulação de HPAs no hepatopâncreas coletados nos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe;
- investigar a relação entre a bioacumulação de HPAs nos caranguejos e os aspectos biométricos dos mesmos.

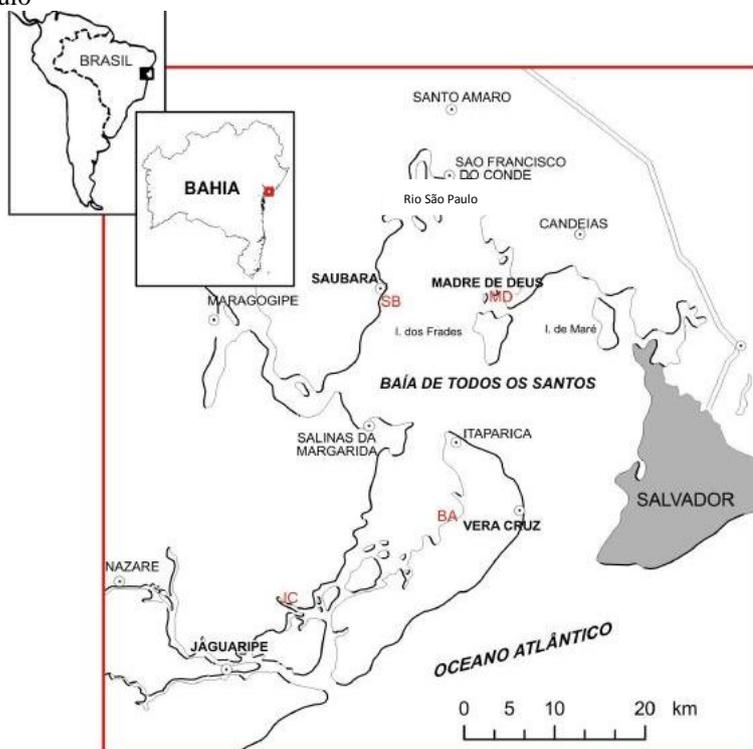
3 MATERIAIS E METÓDOS

A metodologia seguiu as seguintes etapas: coleta do material nas áreas de estudo, identificação das amostras, tratamento das amostras, caracterização do sedimento, determinação de HPAs no hepatopâncreas e determinação de HPAs no sedimento. Segue a descrição das etapas:

3.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente trabalho apresenta como áreas de estudo os estuários dos rios São Paulo, devido sua proximidade com indústrias petrolíferas e Jaguaripe que se localiza em uma área onde não há incidência de resíduos provenientes de atividades petrolíferas, ambos possuem em seu entorno um grande número populacional que possui as atividades marinhas como pesca e mariscagem como principais recursos econômicos. Os estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe estão localizados na Baía de Todos os Santos (Figura 1).

Figura 1- Mapa da Baía de Todos os Santos (BTS) e regiões de amostragem: rio Jaguaripe e rio São Paulo



Fonte: Bahia, 2004

3.1.1 Estuário do Rio São Paulo

Localizado na Baía de Todos os Santos (BTS), no município de Candeias a aproximadamente 46,1 Km de Salvador, que o coloca como parte integrante da área metropolitana, possui aproximadamente 1.100 Km² e apresenta 32 km de largura. Este município tem como áreas limite o município de São Francisco do Conde a oeste, Simões Filho a sudeste, São Sebastião do Passé ao norte e Salvador ao sul (BAHIA, 1994). Possui em seu entorno indústrias petrolíferas e efluentes domésticos em seu corpo hídrico.

3.1.2 Estuário do Rio Jaguaripe

O estuário do rio Jaguaripe (Figura 1) está localizado na região sudoeste da Baía de Todos os Santos, próximo ao município de Nazaré. Possui uma extensão de aproximadamente 4 Km de deltas de maré (BITTENCOURT et.al., 2001).

A agricultura apresenta-se como atividade principal em seu entorno o que gera impacto ambiental nesta área resultante do uso de pesticidas, assim como o aterro do manguezal, efluentes domésticos e resíduos sólidos (CRA, 2004). No entanto, este estuário mostra-se visivelmente menos degradado.

3.2 ÁREA DE AMOSTRAGEM E COLETA

As coletas foram realizadas nos meses de agosto (período da ecdise) e dezembro de 2015 (período reprodutivo), no estuário do rio São Paulo, localizado no norte da BTS, nas proximidades de indústrias químicas e petroquímicas e no estuário do rio Jaguaripe localizado em Nazaré, no sul da BTS. Esta coleta foi formada por cinco pontos amostrais, onde foram coletados quatro caranguejos em cada ponto, totalizando vinte unidades amostrais. O sedimento foi coletado no fundo das galerias do caranguejo Uçá, duas unidades amostrais por ponto totalizando 10 elementos amostrais de sedimentos ao longo dos estuários. As amostragens foram realizadas em um período chuvoso (agosto de 2015) e em um período seco (dezembro de 2015).

3.2.1 Coleta do *Ucides cordatus*

A técnica utilizada para captura dos animais foi por “braceamento”, que consiste na captura direta dos animais pelo catador com a introdução do braço nas galerias de aproximadamente 1m de profundidade. Foi coletado um número de 4 indivíduos por ponto, de forma aleatória entre machos e fêmeas, totalizando 20 elementos amostrais. Os espécimes foram colocados em vasilhames metálicos, posteriormente foram armazenados em cooler contendo gelo picado e transportados até o Laboratório de Estudos de Petróleo (LEPETRO) localizado na Universidade Federal da Bahia (UFBA).

3.2.2 Coleta do sedimento

As amostras de sedimentos foram coletadas do fundo da galeria do caranguejo Uçá, em cinco pontos ao longo do manguezal do rio São Paulo, totalizando dez unidades amostrais. Após coletadas as amostras foram armazenadas em recipientes de vidro devidamente identificados e previamente descontaminadas e mantidos a uma temperatura aproximadamente 4°C em cooler antes de serem encaminhados ao Laboratório de Estudo de Petróleo (LEPETRO) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

3.3 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Todas as amostras foram devidamente armazenadas e direcionadas ao Laboratório de Estudos de Petróleo (LEPETRO) na Universidade Federal da Bahia (UFBA).

3.3.1 Limpeza da vidraria

Toda a vidraria utilizada foi devidamente descontaminada. Durante 12 horas a vidraria foi submersa em solução de detergente Extran (Merck), posteriormente foi enxaguado em água corrente, em seguida em água destilada e deionizada. Após este processo o material foi colocado em estufa a 150°C e forno mufla a 400°C com exceção da vidraria volumétrica que foi seca em temperatura ambiente.

Para assegurar sua limpeza, após este processo, toda a vidraria foi lavada por quatro vezes, duas com hexano e duas com diclorometano. Em seguida foi deixado na capela para a secagem, tampados com papel alumínio e devidamente armazenados.

3.3.2 Biometria e tratamento das amostras do *Ucides cordatus*

Os espécimes de caranguejos foram lavados para retirada do excesso de lama e posteriormente submetidos às medições (biometria), tanto aqueles coletados no estuário do rio São Paulo, quanto os do rio Jaguaripe com o auxílio do paquímetro digital e balança, sendo medido a Largura da Carapaça (LC), Comprimento da Carapaça (CC) e o Peso Total (PT). Após esta etapa os caranguejos foram dissecados para retirada do hepatopâncreas com auxílio de tesoura e pinça previamente descontaminadas. O tecido a ser analisado foi armazenado em potes de vidro com tampas metálicas e postos em freezer para após ser realizada a análise de HPAs.

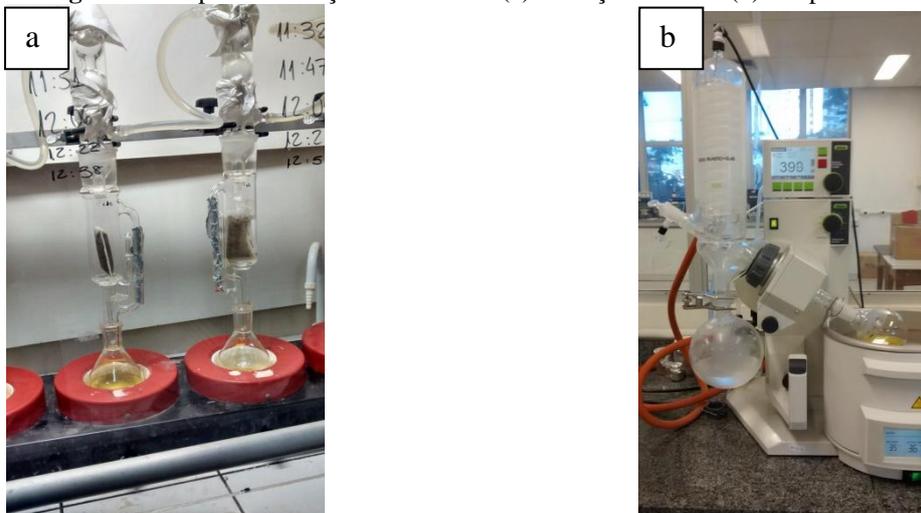
3.4 ANÁLISES DE HPAS NO *Ucides cordatus*

Esta etapa foi constituída por meio da extração *soxhlet* para remoção dos analitos de interesse e da etapa de cromatografia de adsorção que objetiva a redução do teor de lipídios encontrados no hepatopâncreas.

3.4.1 Extração *soxhlet*

Para alíquotas de 2 g de tecido homogeneizado foi adicionado 20 g de Na_2SO_4 anidro, seguido por 100 μL de *p terphenyl d-14*. A mistura foi extraída com 150 mL de diclorometano (DCM) por 4 h em extrator *soxhlet* (Figura 2 a) o extrato obtido foi evaporado em evaporador rotativo (Figura 2 b).

Figura 2– Etapas de extração da amostra: (a) Extração *soxhlet* (b) Evaporador rotativo



Fonte: o autor, 2015

3.4.2 Cromatografia de adsorção

Foi utilizada uma coluna de vidro (Figura 3) empacotada com 16 g de alumina desativada da marca Merck e uma fina camada de sulfato de sódio anidro, em seguida foi colocado 1 mL do extrato e uma mistura de diclorometano (50 mL) e hexano (20 mL). Posteriormente o resultante foi concentrado em evaporador rotativo concentrado em 1 mL, postos em *vial* e armazenado em geladeira a -16 °C.

Figura 3- Cromatografia de adsorção



Fonte: o autor, 2015

3.4.5 Tratamento e análises das amostras de sedimento

As amostras foram liofilizadas para análise granulométrica, maceradas em cadinho de porcelana e peneiradas em malha de 80 *mash* para análise de Carbono Orgânico Total (COT) (EPA, 2002).

3.4.6 Granulometria

Para retirada da matéria orgânica, os sedimentos foram calcinados por 8 h a 450 °C, em seguida foi acrescentado 200 mL de solução de hexametáfosfato de sódio a 0,1 mol⁻¹, em seguida as amostras foram postas em mesa agitadora por 4 h para depois ser realizado a leitura no analisador de partículas.

3.4.7 Carbono Orgânico Total

A realização para determinar o carbono orgânico total foi baseada na metodologia da EPA 1282\2002. Foi adicionado 10 mL de dicromato de potássio em 0,5 g de sedimento, seguido de 20 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) com sulfato de prata ($AgSO_4$). Após trinta minutos de repouso, foram adicionados 0,2 g de fluoreto de sódio (NaF), 10 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4), 200 mL de água destilada e 0,5 ml do indicador difenilamina.

3.4.8 HPAs no sedimento

A determinação de HPAs nas amostras de sedimentos foi baseada na metodologia EPA 3540 C. Alíquotas de 10 g de sedimento foram utilizadas para a extração *soxhlet* por 4 h, foi utilizado 150 mL de diclorometano como solvente. O extrato foi evaporado em evaporador rotativo a 1 mL e posteriormente feito a análise com cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas.

3.5 TRATAMENTO DO MATERIAL UTILIZADO NAS ANÁLISES

Foram utilizados na composição do processo analítico, sulfato de sódio, alumina e sílica, todos da marca Merck que foram colocados em forno mufla durante quatro horas a uma temperatura de 400 °C para remover possíveis resíduos interferentes, ativando, dessa forma, a alumina e a sílica. Em seguida foram armazenados em recipiente de vidro tampado e postos em dessecador. Antes de iniciar o processo de utilização da alumina foi realizada a desativação com o acréscimo de 5 % de água deionizada.

3.5.1 Controle de qualidade

Para cada ciclo de amostras composta por cinco amostras de hepatopâncreas e 5 amostras de sedimento, realizadas separadamente, na extração *soxhlet*, foi adicionada uma amostra composta por 20 g de sulfato de sódio anidro com acréscimo de 100 ng g⁻¹ da solução *surrogate, p terphenyl d-14*, denominada de branco, em seguida foi realizada

a cromatografia de adsorção para as amostras de hepatopâncreas e a etapa de *clean up* para as amostras de sedimento, para assegurar a qualidade analítica e verificar a presença de possíveis contaminantes.

3.5.2 Análise estatística

A análise estatística descritiva das variáveis sedimentológicas (granulometria e COT) e biológicas foi utilizado os resultados de média e desvio-padrão. Todas as análises descritivas e inferenciais foram realizadas através do programa BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2000).

Para analisar a correlação entre HPAs no sedimento e COT foi empregada a Análise de Correlação Linear Pearson.

As análises multivariadas utilizadas foram a Análise de Componentes Principais, para ordenar a concentração de HPAs no sedimento e no hepatopâncreas. A Análise de Redundância foi realizada com o objetivo de verificar as relações entre a concentração de HPAs no sedimento e os aspectos biométricos dos caranguejos (largura da carapaça, LC; comprimento da carapaça, CC; peso total, PT). As análises PCA e RDA foram realizadas empregando o pacote estatístico Canoco for Windows versão 4.5 (LEPS; SMILAUER, 1998).

4 AVALIAÇÃO DE HPAS NOS SEDIMENTOS DOS ESTUÁRIOS: RIOS SÃO PAULO E JAGUARIFE, BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA

RESUMO

Os manguezais são importantes ecossistemas para a proteção da linha costeira, abrigo para animais residentes e imigrantes, e ciclagem de nutrientes. No entanto, ações antrópicas como a queima de combustíveis fósseis e efluentes domésticos e industriais, resultam na liberação de contaminantes para o receptor hídrico, como os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), que possuem características tóxicas e carcinogênicas. Desse modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar os HPAs nos sedimentos dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe, assim como determinar a origem da contaminação. Para isto, foi realizada duas coletas em cada estuário, no período chuvoso em agosto de 2015 e no período seco, em dezembro de 2015 em cinco pontos distribuídos ao longo do manguezal, sendo coletadas duas amostras por ponto totalizando dez unidades amostrais. O estuário do rio São Paulo localiza-se no norte da BTS, nas proximidades de indústrias químicas e petroquímicas e o estuário do rio Jaguaripe encontra-se localizado no município de Nazaré, no sudoeste da BTS, uma área visivelmente menos impactada. A concentração total dos HPAs analisados variou de 3,38 a 189,02 ng g⁻¹ em Jaguaripe e de 3,00 a 128,63 ng g⁻¹ no estuário do rio São Paulo que segundo a resolução n° 454/2012 do CONAMA não apresentam riscos de contaminação nos organismos marinhos presentes nestes locais.

PALAVRAS-CHAVE: HPAs, níveis de contaminação, sedimento, geoquímica

ABSTRACT

Mangroves are important ecosystems for the protection of the coastline, shelter for resident and immigrant animals, and nutrient cycling. However, human activities such as burning fossil fuels results in the release of contaminants to the water receptor, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which have toxic and carcinogenic properties. Thus, this study aims to evaluate the PAHs in the sediments of the estuaries of São Paulo and Jaguaripe rivers, as well as determine the source of the contamination. For this, two samples were collected on each estuary during the rainy season in August 2015 and in the dry season, in December 2015 in five points distributed along the mangroves, being collected two samples per point total of ten sample units. The estuary of the river São Paulo is located in the north of BTS, near chemical and petrochemical industries and the estuary of the river Jaguaripe is located in Nazare municipality in southwestern BTS, a noticeably less impacted area. The total concentration of PAHs analyzed ranged from 3.38 to 189.02 ng g⁻¹ in Jaguaripe and 3.00 to 128.63 ng g⁻¹ in the estuary of São Paulo river that according the resolution n° 454/2012 of CONAMA presents no risk of contamination of marine organisms in these locations.

KEYWORDS: PAHs, contamination levels, sediment, geochemistry

4.1 INTRODUÇÃO

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) são compostos que possuem dois ou mais anéis aromáticos condensados, são persistentes no ambiente e possuem baixa solubilidade em água e características lipofílicas, que tendem a acumular em estruturas corpóreas de organismos marinhos e nas folhas das plantas (CARUSO; ALABURDA, 2008). Devido a sua característica hidrofóbica os HPAs são adsorvidos pelo material particulado e armazenados no sedimento (WISE et al, 1995; CARUSO; ALABURDA, 2008).

Desse modo, alguns animais filtradores como ostras e mexilhões ou animais bentônicos, como o caranguejo Uçá, que permanecem em contato com o sedimento com alto teor de HPAs acabam bioacumulando estes compostos no organismo. Nos seres humanos estes compostos são metabolizados para posterior excreção na urina, que podem reagir com a guanina do DNA e resultar em processos de tumoração (ALABURDA, 2008).

Os HPAs são provenientes de processos naturais como erupções vulcânicas e queimadas ou de ações antropogênicas, resultantes da combustão incompleta da matéria orgânica, de produtos derivados do petróleo que atingem o ambiente marinho por meio de efluentes domésticos e industriais, escapamento de veículos, drenagem urbana ou deposição atmosférica (WITT, 1995; LE BIHANIC et. al., 2014).

A Baía de Todos os Santos (BTS) está localizada no estado da Bahia, que se estende por 462 Km de costa, importante para o país devido a sua extensão, sendo considerada como maior e mais importante baía navegável da costa do Brasil, sendo drenada pelos rios Paraguaçu, Jaguaripe e Subaé (ONOFRE et al., 2007; HADLICH et al., 2008).

A relevância deste trabalho baseia-se na possível indicação de contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nos manguezais dos estuários dos rios São Paulo, resultante da sua proximidade em relação à área metropolitana de Salvador e de atividades industriais químicas e petroquímicas, além do rio Jaguaripe que localiza-se nas proximidades da rodovia BA 001 e que apresenta ao longo do seu corpo efluentes domésticos.

Desta forma, o presente estudo tem como objetivo geral a avaliação da concentração de HPAs no sedimento dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe, além

de indicar sua possível fonte de contaminação, podendo contribuir para discussões sobre o estado de conservação desta área costeira.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A etapa de materiais e métodos seguiu a seguinte ordem: área de amostragem e coleta, tratamento das amostras e análises de HPAs, identificação das origens dos HPAS e o tratamento estatístico.

4.2.1 Área de amostragem e coleta

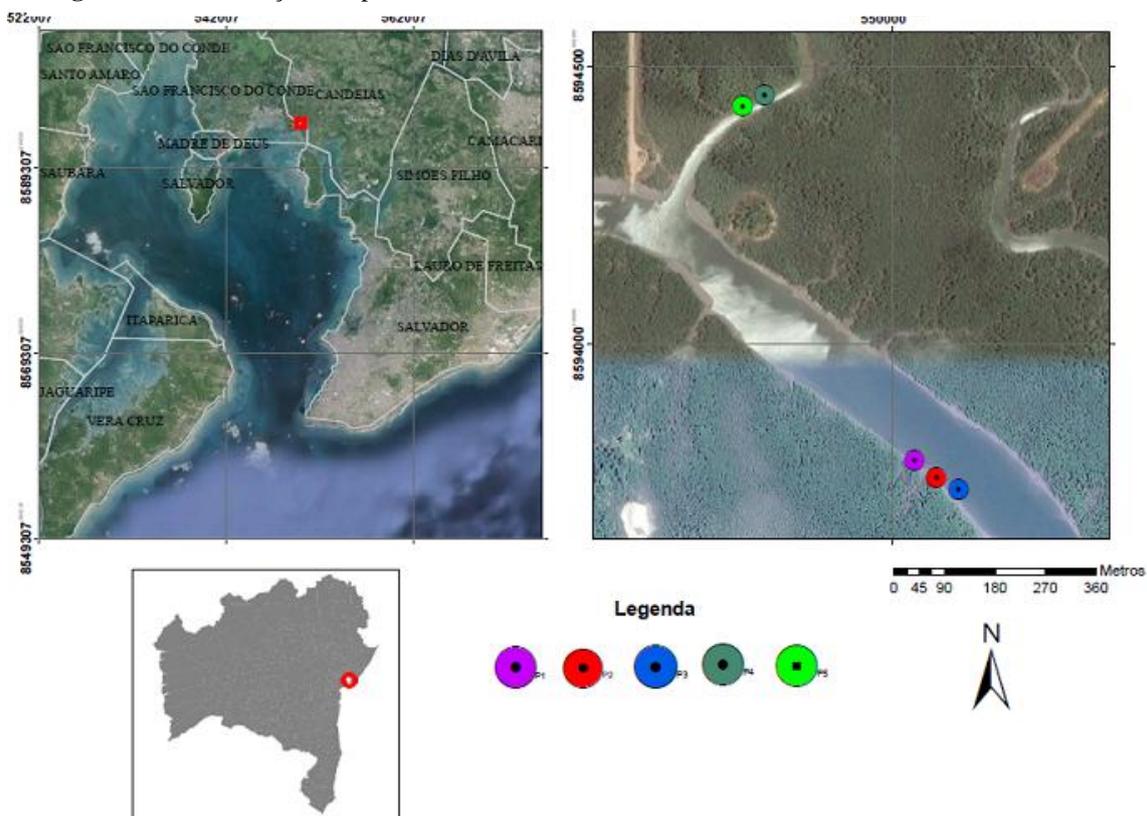
O presente trabalho apresenta como áreas de estudo os estuários dos rios São Paulo, devido sua proximidade com indústrias petrolíferas e Jaguaripe que se localiza em uma área onde não há incidência de resíduos provenientes de atividades petrolíferas, ambos possuem em seu entorno um grande número populacional que possui as atividades marinhas como pesca e mariscagem como principais recursos econômicos. Foram determinados cinco pontos ao longo dos estuários (Figuras 4 e 5), em cada ponto foram coletadas duas amostras de sedimento, totalizando dez elementos amostrais.

4.2.2 Estuário do rio São Paulo

Localizado na Baía de Todos os Santos (BTS) (Figura 4), no município de Candeias a aproximadamente 46,1 Km de Salvador, que o coloca como parte integrante da área metropolitana possui aproximadamente 1.100 Km² e apresenta 32 km de largura. Este município tem como áreas limite o município de São Francisco do Conde a oeste, Simões Filho a sudeste, São Sebastião do Passé ao norte e Salvador ao sul (BAHIA, 1994). Possui em seu entorno a refinaria Landupho Alves de Mataripe (RLAM), que devido às atividades petrolíferas impactam o ambiente por consequência dos resíduos, vazamentos e embarcações provenientes desta refinaria (MOREIRA, et al., 2013), além dos efluentes domésticos visíveis ao longo do corpo hídrico do estuário que aumentam a incidência de HPAs, tanto pelos resíduos de efluentes domésticos quanto pelos resíduos da refinaria.

Estes fatores são determinantes para o aumento das taxas de HPAs neste ambiente, trazendo riscos de contaminação para todo manguezal. Este ecossistema serve como fonte de renda, lazer e economia para a população local.

Figura 4- Determinação dos pontos de coleta no estuário do rio São Paulo

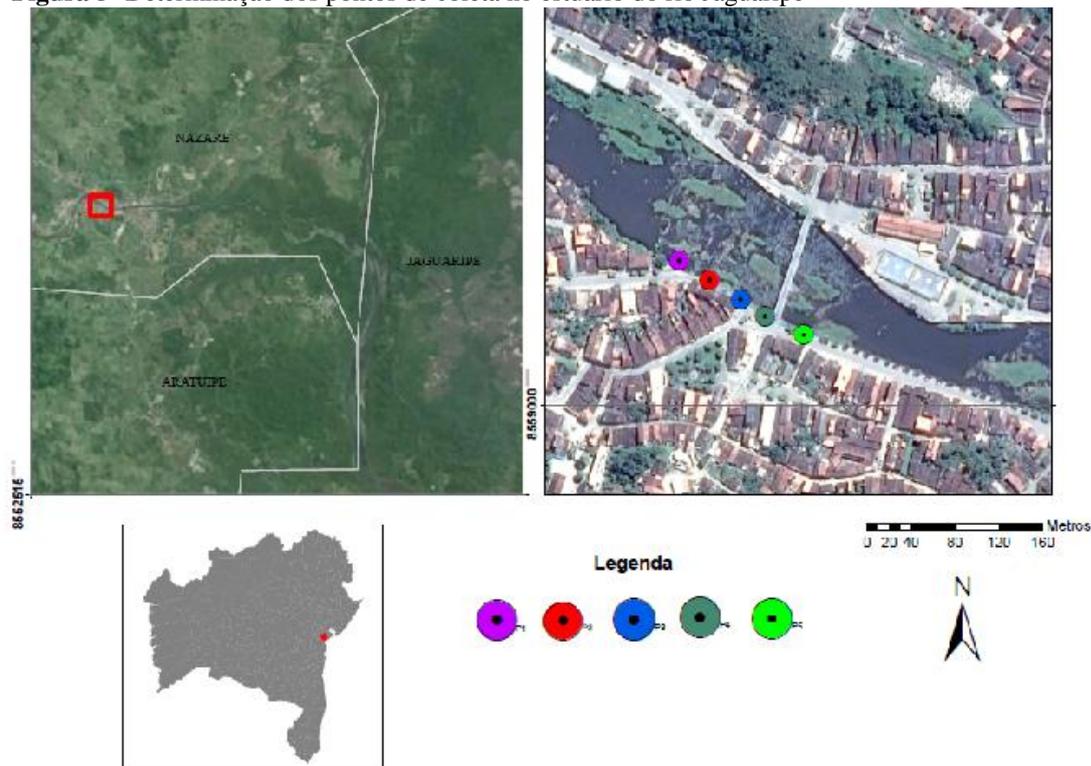


4.2.3 Estuário do rio Jaguaripe

O estuário do rio Jaguaripe (Figura 5) está localizado na região sudoeste da Baía de Todos os Santos, no município de Jaguaripe. Possui uma extensão de aproximadamente 4 Km de deltas de maré (BITTENCOURT et al., 2001).

A agricultura apresenta-se como atividade principal em seu entorno o que gera impacto ambiental nesta área resultante do uso de pesticidas, assim como o aterro do manguezal, efluentes domésticos e resíduos sólidos (BITTENCOURT et al., 2001).

⁴ **Figura 5-** Determinação dos pontos de coleta no estuário do rio Jaguaripe



4.2.4 Tratamento das amostras e análises de HPAs

As amostras de sedimentos foram coletadas a 1 m de profundidade, em ambos os estuários, em cinco pontos ao longo do manguezal, totalizando dez unidades amostrais. Após coletadas as amostras foram armazenadas em recipientes de vidro devidamente identificados e previamente descontaminadas e mantidos a uma temperatura aproximadamente 4 °C em antes de serem encaminhados ao Laboratório de Estudo de Petróleo (LEPETRO) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Justifica-se a coleta do sedimento a 1m de profundidade devido ao fato de que os caranguejos, que apresentam importância ecológica e econômica, possuem hábito de vida nesta profundidade durante quase todo o ano.

4.2.5 Tratamento do material para etapa de clean up

Foram utilizados na composição do processo analítico, sulfato de sódio e sílica, ambos da marca Merck que foram colocados em forno mufla durante quatro horas a uma temperatura de 450 °C para remover possíveis resíduos interferentes, ativando dessa forma a sílica. Em seguida foram armazenados em recipiente de vidro tampado e postos em dessecador.

4.2.6 Determinação de HPAs no sedimento

Para determinar os teores de HPAs nos sedimentos foi utilizado o método 3540C da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) adaptado pelo Laboratório de Estudos de Petróleo (LEPETRO) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Alíquotas de 10 g de sedimento foi utilizada para a extração *soxhlet* por 4 h, foi utilizado 150 mL de diclorometano como solvente, após a adição do padrão *surrogate, p-terphenyl d-14*, para avaliar a taxa de recuperação. O extrato foi evaporado em evaporador rotativo a 1 mL e posteriormente feito a etapa de *clean-up* para remover possíveis interferentes no processo posterior de leitura dos HPAs.

4.2.7 Etapa de purificação dos extratos

Foi utilizada coluna cromatográfica de vidro, empacotada com 10 g de sílica e uma fina camada de sulfato de sódio anidro, em seguida foi adicionado uma alíquota de 1 mL do extrato de sedimento e acrescentado 50 mL (1:1) da mistura diclorometano e hexano como eluente. Em seguida o resultante foi concentrado em 1 mL no rotovapor, posto em *vial* e armazenado em freezer a -18°C até o momento da análise.

4.2.8 Identificação das origens dos HPAs

Foram utilizadas três razões diagnósticas (Tabela 1) para indicar as possíveis fontes dos HPAs encontrados nos sedimentos do estuário do rio São Paulo: Fenantreno \ antraceno (Fen\Ant), Fluoranteno\Pireno (Flu\Pir); e o somatório dos HPAs de alta massa molecular \ soma dos HPAs de baixo peso molecular (Σ LMW\ Σ HMW).

Tabela 1- Razões diagnósticas utilizadas para identificação das origens de HPAs

RAZÃO	FAIXA	CLASS. DA FONTE	REFERÊNCIAS
Fen\Ant	< 10	Petrogênica	BUDZINSKY et al., 1997,
	< 10	Pirogênica	YUNKER et al. 2002
Flu\Pir	> 1	Pirogênica	SOCLO et al., 2000,
	< 1	Petrogênica	BAUMARD et al., 1999
Σ BHPAs\ Σ AHPAs	> 1	Petrogênica	BERNER et al., 1990,
	< 1	Pirogênica	SOCLO et al., 2000

Legenda: Fen = fenantreno, Ant = antraceno, Flu = fluoranteno, Pir = pireno, Σ BHPAs = soma dos valores de HPAs de baixo peso molecular, Σ AHPAs= soma dos valores de HPAs de alto peso molecular

4.2.9 Tratamento estatístico

A análise estatística descritiva das variáveis sedimentológicas (granulometria e COT) e biológicas foi utilizado os resultados de média e desvio-padrão. Todas as análises descritivas e inferenciais foram realizadas através do programa BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2000). Para analisar a correlação entre HPAs no sedimento e COT foi empregada a Análise de Correlação Linear Pearson (Tabela 2).

A análise multivariada utilizada foi a Análise de Componentes Principais, empregada para ordenar a concentração de HPAs no sedimento.

Tabela 2- Avaliação qualitativa do grau de correlação entre duas variáveis

r	Nível de correlação
0	Nula
0 – 0,3	Fraca
0,3 – 0,6	Regular
0,6 – 0,9	Forte
0,9 – 1	Muito forte

Fonte: Callegari Jaques, 2003

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos consistiram na caracterização geoquímica do sedimento, na determinação de HPAs nesta matriz e na indicação da origem dos HPAs presentes nos sedimentos. Estes resultados foram demonstrados na forma de tabela e figura, como segue abaixo:

4.3.1 Caracterização geoquímica do sedimento

A caracterização dos sedimentos foi resultante das análises de granulometria e Carbono Orgânico Total (COT).

De acordo com a análise granulométrica nos sedimentos do estuário do rio Jaguaripe (Tabela 3) pode-se observar na distribuição das frações sedimentares um predomínio de frações mais finas representado pelo silte com valores médios que variam de 86,72 % a 94,13 % no período seco.

Tabela 3- Valores médios da granulometria dos sedimentos do estuário do rio Jaguaripe

AMOSTRA	A. MUITO FINA Média e dp	SILTE Média e dp	ARGILA Média e dp
P1	11,71 ± 1,88	86,72 ± 1,84	1,54 ± 0,00
P2	10,0 ± 1,31	88,34 ± 1,21	1,66 ± 0,00
P3	7,13 ± 3,42	91,04 ± 3,15	1,83 ± 0,00
P4	5,39 ± 0,96	92,64 ± 0,88	1,96 ± 0,00
P5	3,67 ± 4,59	94,13 ± 3,88	2,20 ± 0,01

Legenda: dp= desvio padrão

No estuário do rio São Paulo houve predomínio das frações sedimentares mais finas como podemos observar na Tabela 4, representados pelo silte em que os valores médios variaram de 47,53 % a 69,06 %.

Os contaminantes tendem a ser adsorvida nas partículas mais finas dos sedimentos, nos casos em que há contaminação, este tende a ser mais vulnerável a fontes orgânicas (OROS, 2004).

Tabela 4- Valores médios da granulometria dos sedimentos do estuário do rio São Paulo

AMOSTRA	A. MUITO FINA Média e dp	SILTE Média e dp	ARGILA Média e dp
P1	19,92 ± 0,08	69,06 ± 17,64	2,05 ± 0,01
P2	25,69 ± 0,00	58,86 ± 3,80	1,27 ± 0,00
P3	19,72 ± 0,00	50,48 ± 9,35	1,16 ± 0,00
P4	22,25 ± 0,03	47,53 ± 4,12	1,04 ± 0,00
P5	20,05 ± 0,03	57,40 ± 12,26	1,66 ± 0,01

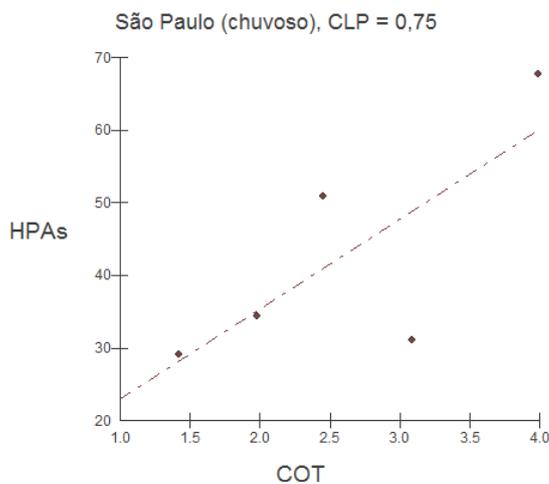
Legenda: dp= desvio padrão

Os valores médios percentuais de Carbono Orgânico Total (COT) no estuário do rio São Paulo variaram de 1,31 a 3,99 % nos períodos seco e chuvoso, respectivamente. Enquanto no estuário do rio Jaguaripe os valores médios de COT variaram de 7,85 a 10,95 %, nos períodos seco e chuvoso, respectivamente. De acordo com a matriz de correlação linear Pearson, há uma forte correlação entre os HPAs e o teor de COT no período chuvoso para o estuário do rio São Paulo (Figura 5), onde atingiu $r = 0,75$, e, no período seco, para o estuário do rio Jaguaripe (Figura 6), onde foi obtido um $r = 0,65$. Ou seja, o aumento da concentração de HPAs no sedimento influencia no aumento da concentração de COT nestes ambientes.

O teor de COT no período seco, para o estuário do rio São Paulo e no período chuvoso, para o estuário do rio Jaguaripe não apresentaram relação de dependência e por isto não foram representados graficamente.

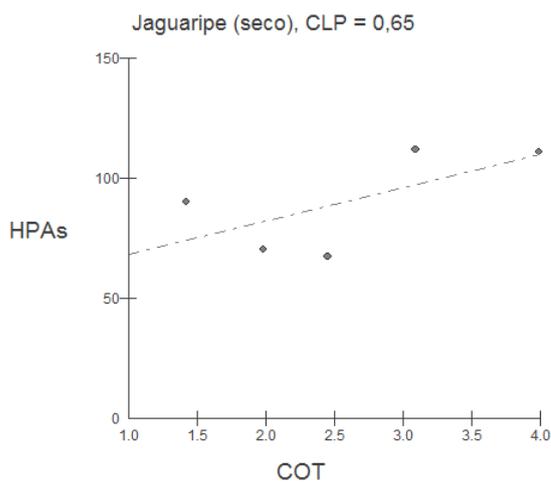
A correlação entre os HPAs e COT no estuário do rio São Paulo no período chuvoso deve-se ao aumento do escoamento hídrico neste período que carregam componentes orgânicos oriundos de resíduos domésticos e industriais. Desse modo, devido sua característica lipofílica, os HPAs são adsorvidos no sedimento com alto teor de carbono encontrado nos compostos orgânicos.

Figura 6- Análise de correlação no estuário do rio São Paulo entre o COT e HPAs



Legenda: CLP= Correlação Linear de Pearson, COT= Carbono Orgânico Total

Figura 7- Análise de correlação no estuário do rio Jaguaripe entre o COT e HPAs



Legenda: CLP= Correlação Linear de Pearson, COT= Carbono Orgânico Total

Já no estuário do rio Jaguaripe o fator de correlação (Figura 7) no período seco deve-se possivelmente o transporte atmosférico de HPAs resultantes de combustíveis fósseis devido a proximidade deste estuário com a BA 001.

4.3.2 Determinação de HPAs nos sedimentos

As concentrações totais dos HPAs analisados no estuário do rio São Paulo variaram de 423,90 a 751,22 ng g⁻¹, enquanto no estuário do rio Jaguaripe variaram de 642,75 a 938,36 ng g⁻¹.

Entre os 16 HPAs encontrados nos sedimentos dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe os compostos fluoranteno, pireno, benzo (b) fluoranteno, e benzo (gui) perileno, ou seja HPAs de alto peso molecular, apresentaram maiores concentrações entre os compostos analisados que segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 2010) são classificados como não carcinogênicos, com exceção do composto benzo (b) fluoranteno que é fortemente carcinogênico, foi encontrado também em teores elevados o naftaleno que é caracterizado por apresentar de dois a três anéis aromáticos em sua estrutura, ou seja de baixo peso molecular e não carcinogênico de acordo com o IARC.

Os resultados do presente estudo estão em concordância com Silva, Bereta e Tavares (2014) que encontraram resultados similares em seu estudo de HPAs na BTS, onde obteve predomínio de HPAs de alto peso molecular com valores que variaram de 1,4 a 3564 ng g⁻¹, enquanto os HPAs de baixo peso molecular apresentaram valores que variaram de 0,9 a 457 ng g⁻¹.

Silva (2002), estudando HPAs na BTS, encontrou valores de concentrações totais de HPAs que variaram de 1,3 a 4021 ng g⁻¹, determinando como indicadores de origem fontes múltiplas.

Tabela 5- Comparação dos teores de HPAs em sedimentos na Baía de Todos os Santos

Local	Concentração de HPAs (ng g ⁻¹) ¹⁾	Referências
Baía de Todos os Santos	423,90 a 938,36 ng g ⁻¹	Presente estudo
Baía de Todos os Santos	1,4 a 3564	Silva, Bereta e Tavares, 2014
Baía de Todos os Santos	1,3 a 4021	Silva, 2002
Baía de Todos os Santos	48,6 a 7221	Santana et al, 2010

De acordo com a resolução do CONAMA n°454 de 2012 (CONAMA, 2012) as concentrações dos HPAs são classificados no nível 1, que apresenta limiar abaixo do qual há menor probabilidade de efeitos adversos à biota e nível 2 que apresenta limiar acima do qual há maior probabilidade de efeitos adversos à biota.

No entanto, neste estudo, os HPAs apresentaram valores inferiores ao nível 1, como pode ser observado na Tabela 6, que determina limiar abaixo do qual a menor

probabilidade de efeitos adversos a biota. Este resultado difere dos valores encontrados por Silva, Beretta e Tavares (2014), na BTS onde obteve alto, médios e baixos níveis de concentrações dos HPAs nos sedimentos.

Tabela 6- Diretrizes de qualidade de sedimento (concentrações em ng g^{-1}) segundo o CONAMA n°454 de 2012, em água salobra nos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe

	Nível 1	Nível 2	Jag. 1	Jag. 2	SP1	SP2
HPAs	AS	AS	PC	P.S	PC	P.S
Naf	160	2100	30,56	67,64	27,09	43,35
Act	44	640	12,95	14,97	23,33	23,85
Acn	16	500	3,38	3,96	1,24	3,00
Fl	19	540	8,50	11,11	5,43	9,55
Fen	240	1500	45,01	52,04	12,86	28,45
Ant	85.3	1100	16,98	14,66	19,97	25,92
Flu	600	5100	128,64	189,02	35,69	53,19
Pir	665	2600	77,99	96,26	32,31	61,24
BA	280	690	50,25	47,90	13,29	30,06
Cri	300	850	48,84	37,85	11,24	34,17
BbF			97,32	98,84	64,57	103,68
BkF			44,90	36,71	17,78	29,46
BP	230	760	77,62	71,86	31,78	55,59
IP			41,08	90,73	46,41	80,48
Dib	43	140	20,84	21,27	19,06	29,79
Bep			42,46	85,21	55,54	90,75
ΣHPAs	4000		642,750	938,36	423,90	751,24

Legenda: Nível 1 e nível 2: parâmetros utilizados na resolução 254 de 2012 do CONAMA, AS= água salobra, PC= período chuvoso, PS = período seco, Jag 1 = Jaguaripe no período seco, Jag 2 = Jaguaripe no período chuvoso, SP 1= estuário do rio São Paulo no período chuvoso, SP 2= estuário do rio São Paulo no período seco, Naf = naftaleno, Act = Acenaftileno, Acn = Acenafteno, Fl = Fluoreno, Fen = Fenantreno, Ant = Antraceno, Flu = Fluoranteno, Pir = Pireno, Ba = Benzo (a) antraceno, Cri = Criseno, Bbf = benzo (b) fluoranteno, Bkf = Benzo (k) fluoranteno, Bp = Benzo (a) pireno, IP = Indeno (123cd) pireno, Dib = Dibenzo (ah) antraceno, Bep = benzo (ghi) perileno

4.3.3 Análises de componentes principais para sedimento

O primeiro componente principal explicou 56 % da variância total dos dados, enquanto que o segundo componente explicou 16 % da variância total dos dados (Tabela 7, Figura 8)

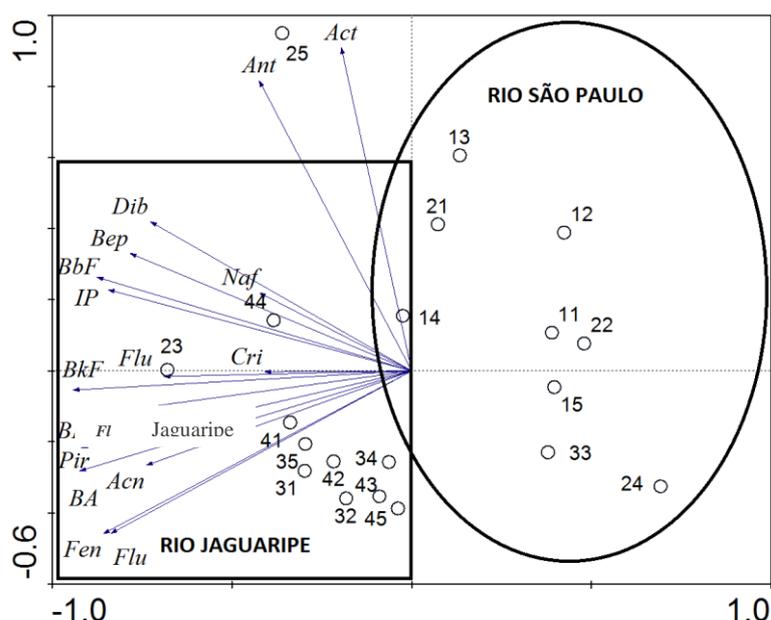
Tabela 7- Explicabilidade da Análise de Componentes Principais baseado nos hidrocarbonetos presentes no sedimento dos rios São Paulo e Jaguaripe, Baía de Todos os Santos, Bahia

COMPONENTES	PERCENTAGEM (%)	P. ACUMULADA (%)
1	0,564	56
2	0,161	72
3	0,086	81
4	0,069	88

Juntos os dois primeiros componentes principais explicaram 72 % da variância dos HPAs no sedimento, conferindo significativo estatístico a esta análise, já que o esperado é que uma análise de componentes principais explique ao menos 60 % da variância (LEPS; SMILAUER, 1998).

A separação espacial das estações de amostragem foi consequência das diferenças de concentrações de HPAs obtidas nos estuários estudados. O estuário do rio São Paulo no período chuvoso, representado pelos pontos 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; 1,5 e no período seco respresentado pelos pontos 2,1; 2,2; 2,3; 2,4; 2,5 apresentou as menores concentrações nos diferentes compostos de HPAs, destacando-se apenas antraceno (Ant) e o acenaftileno (Act) no período chuvoso.

Figura 8- Projeção dos dois primeiros componentes principais baseados nos hidrocarbonetos presentes no sedimento dos rios São Paulo e Jaguaripe, Baía de Todos os Santos, Bahia



Legenda: Naf = naftaleno, Act = Acenaftileno, Acn = Acenafteno, Fl = Fluoreno, Fen = Fenantreno, Ant = Antraceno, Flu = Fluoranteno, Pir = Pireno, Ba = Benzo (a) antraceno, Cri = Criseno, Bbf = benzo (b) fluoranteno, Bkf = Benzo (k) fluoranteno, Bp = Benzo (a) pireno, IP = Indeno (123cd) pireno, Dib = Dibenzo (ah) antraceno, Bep = benzo (ghi) perileno

A separação espacial das estações de amostragem foi consequência das diferenças de concentrações de HPAs obtidas nos estuários estudados. O estuário do rio São Paulo no período chuvoso, representado pelos pontos 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; 1,5 e no período seco respresentado pelos pontos 2,1; 2,2; 2,3; 2,4; 2,5 apresentou as menores concentrações nos diferentes compostos de HPAs, destacando-se apenas antraceno (Ant) e o acenaftileno (Act) no período chuvoso.

O estuário do rio Jaguaripe, representado pelos pontos 3,1; 3,2; 3,3; 3,4 e 3.5, no período chuvoso e 4,1; 4,2; 4,3; 4,4; 4,5 no período seco, apresentou maiores valores em 14 dos 16 HPAs analisados, representados por naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo (a) antraceno, criseno, benzo (B) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, Indeno (123cd) pireno, dibenzo (ah) antraceno e benzo (ghi) perileno.

4.3.4 Origem dos HPAs

Índices diagnósticos são utilizados para determinar a origem dos HPAs que podem ser de fonte antropogênica ou natural, sendo as de origem antropogênica, pirolítica (pirogênica) e petrogênica, de maior ocorrência nas amostras ambientais (CARUSO; ALABURDA, 2008; HE et al., 2014). As fontes pirogênicas estão frequentemente presentes nos HPAs de alta massa molecular, enquanto os HPAs de baixo peso molecular são decorrentes de fontes petrogênica, encontrados principalmente nos hidrocarbonetos do petróleo (NOTAR, 1999; SILVA, BERETTA E TAVARES, 2014).

Desse modo, foram utilizadas três razões diagnósticas para indicar as possíveis fontes dos HPAs encontrados nos sedimentos dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe: Fenantreno/antraceno (FEN\ANT), Fluoranteno/Pireno (Flu\Pir) e o somatório dos HPAs de alta massa molecular/ soma dos HPAs de baixo peso molecular (Σ BHPAs/ Σ AHPAs).

A relação FEN\ANT maior que dez tem sua contaminação resultante principalmente de fontes petrogênicas e valores abaixo de dez indica contaminação de origem pirogênica (BUDZINSKI et al., 1997). O resultado do parâmetro geoquímico FLU\PIR maior que 1 indica fonte pirogênica e menores que 1 fonte petrogênica (YANCHESHMEH et al., 2014), enquanto os valores obtidos da razão Σ BHPAs/ Σ AHPAs menor que 1 indica contaminação pirogênica, valor maior que 1 aponta fonte petrogênica (SOCLO et al., 2000).

A Tabela 8 mostra as razões analisadas e as possíveis fontes de origem dos HPAs nos dois estuários estudados. Pode-se observar que no estuário do rio Jaguaripe nas três razões diagnósticas utilizadas predominou a origem pirogênica nas amostras de sedimentos que é caracterizado pela combustão incompleta da matéria orgânica, com valores de média e desvio padrão variando de $0,21 \pm 0,02$ a $3,61 \pm 0,99$ ng g⁻¹, respectivamente. A origem pirogênica neste local é oriunda da proximidade com a BA 001, que devido à ação pluviométrica arrastam os resíduos da queima de combustíveis fósseis, como gasolina e óleo diesel, proveniente de veículos para o corpo hídrico do manguezal, além dos efluentes domésticos presentes no manguezal.

Já no estuário do rio São Paulo apenas a razão diagnóstica Flu\Pir indicou origem petrogênica, no período seco com valores de média e desvio padrão de $0,73 \pm 0,30$ ng g⁻¹, enquanto as razões Fen\Ant e Σ BHPAs / Σ AHPAs apontaram origem pirogênica. Portanto, consideram-se fontes mistas do contaminante HPAs neste local que consiste na fonte pirogênica: resultante de efluentes domésticos e industriais presentes ao longo do manguezal e petrogênica: resultante da combustão incompleta dos hidrocarbonetos presentes no petróleo.

Os resultados das razões diagnósticas utilizadas no estuário do rio São Paulo corrobora com os resultados obtidos por Santana et al., (2010) na BTS, que obtiveram predominância de compostos de origem pirogênica.

Tabela 8- Parâmetros diagnósticos de origem de HPAs nos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe

Período	Razão	Limite	Origem	Jag- Média e dp	SP- Média e dp
PC		>10	Petrogênica	$0,51 \pm 0,09$	$0,73 \pm 0,35$
P.S	Fen\Ant	<10	Pirogênica	$3,61 \pm 0,99$	$1,14 \pm 0,78$
PC		>1	Pirogênica	$1,70 \pm 0,41$	$1,05 \pm 0,24$
P.S	Fla\Pir	<1	Petrogênica	$1,98 \pm 0,46$	$0,73 \pm 0,30$
PC		<1	Pirogênica	$0,21 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,13$
P.S	Σ BHPAs / Σ AHPAs	>1	Petrogênica	$0,22 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,21$

Legenda: Jag= Jaguaripe, SP= São Paulo, PC= Período chuvoso, PS= período seco, Fen = fenantreno, Ant= antraceno, Flu= fluoranteno, Pir= pireno, Σ BHPAs = soma dos HPAs de baixo peso molecular, Σ AHPAs= soma dos HPAs de alta massa molecular

4.4 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo mostraram que os HPAs identificados em ambos os estuários são de alto peso molecular, não carcinogênicos e de origem pirogênica.

Os resultados obtidos nas três razões diagnósticas empregadas para verificar a origem dos HPAs foram similares, apontando para uma fonte pirogênica, possivelmente oriunda de efluentes domésticos e indústrias presentes em ambos os estuários estudados, ou da proximidade com estradas em que o fluxo de veículos é intenso.

De acordo com a resolução CONAMA 454\2012 pode-se concluir que os sedimentos dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe se encontram em baixas concentrações indicando que não há contaminação por HPAs nas áreas analisadas.

Deste modo, recomenda-se um programa de monitoramento adequado para estes estuários visando à conservação ambiental por meio de ações preventivas e correta destinação dos efluentes, já que a BTS é uma área de importantes atividades, tais como o turismo, lazer, pesca e mariscagem.

5 BIOACUMULAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS NO *Ucides cordatus* NOS ESTUÁRIOS DOS RIOS SÃO PAULO E JAGUARIBE, BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA

RESUMO

Grande parte dos manguezais tornou-se receptores de resíduos resultantes de atividades antrópicas, um dos contaminantes resultantes dessas ações são os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) que devido a sua característica lipofílica são absorvidos por meio dos tecidos biológicos dos organismos marinhos como o caranguejo da espécie *Ucides cordatus*. No entanto, há poucos trabalhos que objetivem a determinação do teor de HPAs nas estruturas corpóreas desta espécie, devido à presença de lipídios que dificulta a análise cromatográfica. Desse modo, este trabalho teve como objetivo determinar uma metodologia que visa a redução de interferentes analíticos, lipídios, por meio de métodos experimentais além de avaliar a concentração de HPAs no hepatopâncreas do *Ucides cordatus* nos estuários dos rios São Paulo e Jaguaribe. A concentração total de HPAs nas amostras de hepatopâncreas variou de 0,9 a 135,86 ng g⁻¹, no estuário do rio Jaguaribe e de 2,91 a 755,93 ng g⁻¹, no estuário do rio São Paulo. Os compostos naftaleno, acenaftileno, Acenafteno, fluoreno, pireno e criseno apresentaram valores acima do nível 1, e de acordo com a International Agency for Research on Cancer (IARC) não apresentam carcinogenicidade, exceto o criseno que é fortemente carcinogênico.

Palavras-chave: HPAs, *Ucides cordatus*, hepatopâncreas, manguezal

ABSTRACT

A great part of the mangrove became waste receptors resulting from human activities, one of the contaminants resulting from these actions are the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) that due to its lipophilic characteristics are absorbed by biological tissues of marine organisms such as crab species *Ucides cordatus*. However, there are few studies that aim to determine the PAH content in the body structures of this kind, due to the presence of lipids which makes the chromatographic analysis harder. Thus, this study aimed to determine a methodology that aims to reduce analytical interferences, lipids, through experimental methods and to evaluate the concentration of PAHs in the hepatopancreas *Ucides cordatus* in the estuaries of São Paulo and Jaguaribe rivers. The total concentration of PAHs in hepatopancreas samples ranged from 0.9 to 135.86 ng g⁻¹, in the estuary of the river and Jaguaribe 2.91 to 755.93 ng g⁻¹, in the estuary of the river São Paulo. The compounds naphthalene, acenaphthylene, Acenaphthene, fluorene, pyrene and chrysene showed values above level 1, and according to the International Agency for Research on Cancer (IARC) have no carcinogenicity except chrysene which is highly carcinogenic.

Keywords: PAHs, *cordatus Ucides*, hepatopancreas, mangrove

5.1 INTRODUÇÃO

Os manguezais são importantes ecossistemas que servem como proteção para linha de costa, abrigo para animais residentes e imigrantes e para ciclagem de nutrientes. No entanto, os manguezais tornaram-se receptores de resíduos de atividades antrópicas como resíduos sólidos, resíduos provenientes dos adubos utilizados na aquicultura, resíduos de efluentes domésticos e industriais e resíduos de atividades petrolíferas por meio do transporte, armazenamento e refino do petróleo.

Desse modo, é comum a presença de compostos contaminantes neste ecossistema como os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) que são persistentes no ambiente e possuem baixa solubilidade em água (CARUSO et al., 2008). Os perigos resultantes da toxicidade dos HPAs são reconhecidos por órgãos nacionais e internacionais. De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), os HPAs são considerados poluentes nível B-2 que intitula como carcinogênico (AZEVEDO; ARAÚJO; SILVA, 2013). Estes poluentes ocasionam danos para biota nos ambientes onde são encontrados, como o caranguejo da espécie *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), conhecido como caranguejo Uçá.

O *Ucides cordatus* pertence à ordem Decapoda, inserido na família Ocypodidae e a subfamília Ocypodinae (MELO, 1996) é conhecido popularmente como caranguejo Uçá. Possui hábito semi-terrestre com distribuição no Atlântico Ocidental da Flórida (EUA) até Laguna, Santa Catarina (Brasil), uma espécie muito utilizada como bioindicador devido sua capacidade de acumular contaminantes em suas estruturas corpóreas. O hepatopâncreas, estrutura responsável pela digestão e acúmulo de nutrientes, é o principal tecido que direciona esses nutrientes como fonte de energia para as diferentes etapas de vida deste crustáceo.

Há um número considerável de trabalhos que utilizam o caranguejo Uçá como objeto de estudo, sendo as primeiras referências datadas em 1763 com o pesquisador Linnaeus. No nordeste do Brasil há referências de estudos sobre a economia de crustáceos no período de 1962, com Coelho, Fausto Filho (1968) e Paiva (1970). Desse modo, este estudo objetiva avaliar diferentes métodos de redução de lipídios para assegurar a eficácia na determinação de HPAs no hepatopâncreas do caranguejo da espécie *Ucides cordatus*, podendo contribuir para discussões sobre o estado de conservação de uma determinada área costeira e sobre a qualidade do pescado consumido no local do estudo.

5.2 MATERIAIS E METÓDOS

Devido à presença do alto teor de lipídios no hepatopâncreas a determinação de HPAs na etapa cromatográfica é dificultada, pois os lipídios interferem na recuperação dos analitos de interesse, “mascarando” os resultados. Deste modo, é necessária a redução de gorduras neste tecido biológico, por meio de técnicas que objetivem a diminuição destes interferentes para uma melhor análise do teor de HPAs nas amostras.

Com isso, foram desenvolvidos três métodos objetivando a redução de lipídios nos extratos das amostras de hepatopâncreas.

5.2.1 Área de amostragem e coleta

A técnica utilizada para captura dos animais foi por “braceamento”, que consiste na captura direta dos animais pelo catador com a introdução do braço nas galerias de aproximadamente 1 m de profundidade. Foi coletado um número de 4 indivíduos por ponto, de forma aleatória entre machos e fêmeas, totalizando 20 elementos amostrais. Os espécimes foram colocados em vasilhames metálicos, posteriormente foram armazenados em cooler contendo gelo picado e transportados até o Laboratório de Estudos de Petróleo (LEPETRO) localizado na Universidade Federal da Bahia (UFBA).

5.2.2 Biometria e tratamento das amostras

Os espécimes foram lavados para retirada do excesso de lama e posteriormente realizado a biometria (Figura 9) dos caranguejos do estuário do rio São Paulo (SP 1 e SP 2) e do rio Jaguaripe (J 1 e J 2) com o auxílio do paquímetro digital e balança, sendo medido a Largura da Carapaça (LC), Comprimento da Carapaça (CC) e Peso Total (PT) que foi utilizado.

Figura 9- Biometria do caranguejo Uçá



Fonte: Pinheiro, 2009

Os valores da biometria do estuário do rio São Paulo e Jaguaripe estão descritos nas Tabelas 9 e 10, respectivamente.

Tabela 9- Médias da biometria do caranguejo Uçá SP 1 e SP 2

PONTOS	LC	CC	PT
P1 SP1	6,1	4,63	95,17
P2 SP1	6,2	4,73	100,43
P3 SP1	6,4	4,55	95,18
P4 SP1	5,5	4,3	74,28
P5 SP1	5,6	4,3	75,73
P1 SP2	6,2	4,5	106,9
P2 SP2	5,9	4,2	78,1
P3 SP2	5,5	4,3	78,8
P4 SP2	6,4	4,6	96,6
P5 SP2	5,4	4,0	62,7

Tabela 10- Médias da biometria do caranguejo Uçá J 1 e J 2

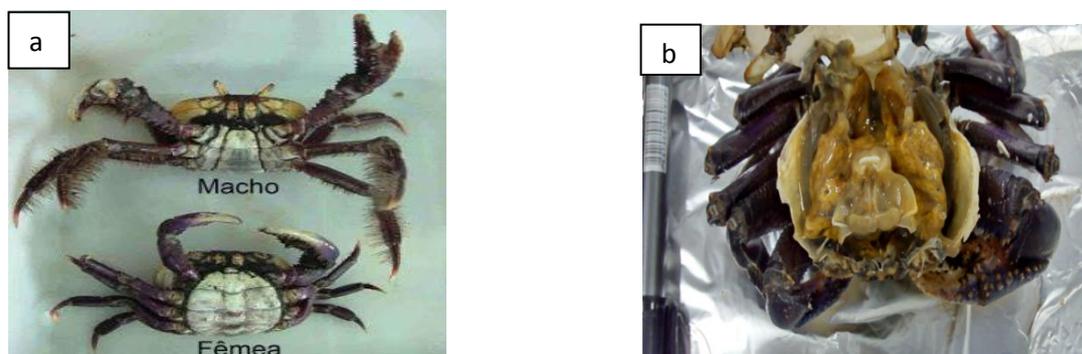
PONTOS	LC	CC	PT
P1 J1	6,38	4,65	105,53
P2 J1	6,28	4,7	109,08
P3 J1	6,63	4,4	108,02
P4 J1	6,08	4,45	98,96
P5 J1	6,07	4,47	93,72
P1 J2	6,65	4,5	114,18
P2 J2	6,45	4,63	103,62
P3 J2	6,38	4,45	90,37
P4 J2	6,25	4,38	87,98
P5 J2	5,6	4	66,42

Legenda: LC= largura da carapaça, CC= comprimento da carapaça, PT= peso total, J 1= Jaguaripe campanha 1, J 2= Jaguaripe campanha 2

Após esta etapa os caranguejos machos e fêmeas (Figura 10 a) foram dissecados para retirada do hepatopâncreas (Figura 10 b) com auxílio de tesoura e pinça previamente descontaminadas. O tecido a ser analisado foi armazenado em potes de

vidro com tampas metálicas e postos em freezer para após ser realizada a análise de HPAs.

Figura 10- Dissecação do hepatopâncreas do *U. cordatus*

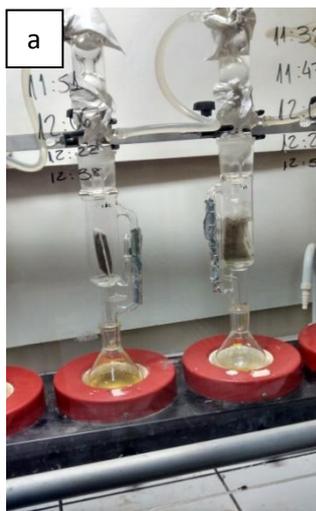


Fonte: O autor, 2015

5.2.3 Análise de HPAs no *Ucides cordatus*

Para alíquotas de 2 g de tecido homogeneizado foram adicionadas 20 g de Na_2SO_4 anidro, seguido por 100 μl de p terphenyl d-14. A mistura foi extraída com 150 mL de diclorometano por 4 h em extrator *soxhlet* (Figura 11 a) o extrato obtido foi evaporado em evaporador rotativo (Figura 11 b). Em seguida foi realizada a cromatografia de adsorção para reduzir o teor de lipídios nas amostras de hepatopâncreas. O teor de lipídios nos extratos foi reduzido por meio de cromatografia de adsorção em uma coluna de vidro. Foi utilizada uma mistura de 50 mL de diclorometano e 20 mL de hexano como eluente, em seguida o extrato foi novamente evaporado rotativamente e concentrado em aproximadamente 1 mL. Após a correção do volume para 1 mL, o extrato foi armazenado em *vial* e guardado em geladeira até a análise da fração aromática.

Figura 11– Etapas de extrações das amostras



Fonte: O autor, 2015

5.2.4 Extração soxhlet

A extração foi realizada com 2 g de hepatopâncreas, com adição de 20 g de sulfato de sódio anidro e 150 mL de diclorometano como solvente, durante 4 h. Foi utilizada 100 μ l do *surrogate*, *p-terphenyl-d-14*, para assegurar a recuperação dos analitos de interesse. Em seguida o resultante foi concentrado em evaporador rotativo e armazenado 1 mL no *vial* para posterior utilização.

5.2.5 Experimentos da etapa de purificação

Os experimentos de purificação desenvolvidos foram compostos por três metodologias. A primeira (M1) utilizou-se ácido sulfúrico, já nas metodologias 2 e 3 (M2 e M3) foi realizada cromatografia de adsorção na qual utilizou-se alumina no empacotamento da coluna.

Após a extração, as amostras de hepatopâncreas foram concentradas em 1 mL em evaporador rotativo, em seguida foi colocado alíquota de 1 mL numa placa de Petri descartável recém pesada em balança de alta precisão, em seguida a placa contendo a alíquota foi posta em dessecador para evaporar os solventes presentes e novamente pesada após o acréscimo da amostra.

METODOLOGIA 1: Para a remoção no teor de lipídios na amostra de hepatopâncreas foi utilizado um tratamento ácido com 1,0 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado sob agitação por dois minutos. Após a decantação dos lipídios, o

conteúdo restante foi retirado com auxílio de pipeta de Pasteur e posto em *vial* para posterior análise de HPAs.

METODOLOGIA 2: Foi utilizado 10 g de alumina, previamente descontaminada a 450 °C em forno mufla e desativada a 5 % com água Mili-Q, numa coluna de vidro, em seguida foi adicionado uma fina camada de sulfato de sódio anidro da marca Merck e 2 g do extrato de hepatopâncreas. Uma mistura de 50 mL (1:1) de diclorometano e hexano foram utilizadas como eluente.

METODOLOGIA 3: Foi utilizado 16 g de alumina previamente descontaminada a 450°C em forno mufla e desativada a 5 % com água Mili-Q, em seguida foi adicionado uma fina camada de sulfato de sódio anidro da marca Merck e 2 g do extrato de hepatopâncreas. Foi utilizado uma mistura contendo 50 mL de diclorometano e 20 mL de hexano.

5.2.6 Cromatografia de adsorção

Foi utilizada uma coluna de vidro (Figura 12) empacotada com 16 g de alumina desativada da marca Merck e uma fina camada de sulfato de sódio anidro, em seguida foi colocado 1 mL do extrato e uma mistura de DCM (50mL) e hexano (20 mL). Posteriormente o resultante foi concentrado em evaporador rotativo concentrado em 1 mL, postos em *vial* e armazenado em geladeira a -16 °C. Esta metodologia foi baseada no trabalho descrito por Nudi et al., 2007, em seu trabalho intitulado *Validation of *Ucides cordatus* as bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records.*

Figura 12- Cromatografia de adsorção



Fonte: O autor, 2015

5.2.7 Cálculo para redução de lipídios

A redução de lipídios foi realizado com o método gravimétrico, baseado em UNEP;FAO;IOC; IAEA (1986), que consiste na pesagem da alíquota de 1 mL do extrato de hepatopâncreas numa placa de Petri, recém pesada e feito a subtração da placa antes e depois da alíquota que determinou o valor da massa residual (MR).

Foi utilizada a seguinte fórmula: $\% L = \frac{MR \times VTE \times 100}{MA \times VA}$, sendo % L = Porcentagem de lipídios a qual se pretende encontrar; MR= massa residual correspondente a subtração do peso da placa de Petri antes e depois do acréscimo da alíquota; VTE= volume total do extrato após a extração *soxhlet*; MA= Massa da amostra, onde foi utilizado 2 g de hepatopâncreas e VA= volume da alíquota que corresponde a 1 mL.

5.2.8 Controle de qualidade

Para cada ciclo de amostras composta por cinco amostras de hepatopâncreas, na extração *soxhlet*, foi adicionada uma amostra composta por 20 g de sulfato de sódio anidro com acréscimo de 100 ng g⁻¹ da solução *surrogate, p terphenyl d-14*, denominada de branco, em seguida foi realizada a cromatografia de adsorção, como descrita no item 7.2.7, para assegurar a qualidade analítica e verificar a presença de possíveis contaminantes.

5.2.9 Tratamento estatístico

A Análise de Redundância foi realizada com o objetivo de verificar as relações entre a concentração de HPAs no hepatopâncreas e os aspectos biométricos dos caranguejos (largura da carapaça, LC; comprimento da carapaça, CC; peso total, PT). As análises PCA e RDA foram realizadas empregando o pacote estatístico Canoco for Windows versão 4.5 (LEPS; SMILAUER, 1998).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da redução de lipídios foram analisados de acordo com o cálculo de redução de lipídios. Para a recuperação da solução *surrogate* foi utilizado os valores aceitáveis que variam de 40 % a 130 %, de acordo com Sericano, 1998.

5.3.1 Testes de purificação

Os resultados da redução de lipídios nos três testes foram analisados de acordo com o cálculo de redução de lipídios como podemos observar nas equações abaixo, e na recuperação do *surrogate, p terphenyl d-14*, que pode ser observada na Tabela 10.

Cálculos de redução de lipídios:

$$\text{M 2: } \% L = \frac{MR \times VT}{MA \times VA} \times 100$$

$$\% L = \frac{0.5353 \times 1 \text{ ml}}{2 \text{ g} \times 1 \text{ ml}} \times 100$$

$$\% L = 26.76$$

$$\text{M 3: } \% L = \frac{MR \times VT}{MA \times VA} \times 100$$

$$\% L = \frac{0.0603 \times 1 \text{ ml}}{2 \text{ g} \times 1 \text{ ml}} \times 100$$

$$\% L = 3$$

Tabela 11- Taxa de redução de lipídios

% LIPÍDIOS	Metodologia 1	Metodologia 2	Metodologia 3
0 – 100	-	73,24	97,0

No entanto, no resultado obtido da análise de HPAs utilizando ácido sulfúrico com acréscimo de *surrogate* foi observado que houve uma degradação de alguns compostos. Dessa forma a análise de redução de lipídios com esta técnica seria inútil devido à perda de componentes presentes nas amostras de hepatopâncreas.

Na metodologia 2, a quantidade de alumina e da mistura de solventes não foi suficiente para remover o interferente para análise dos HPAs. Desse modo, foi necessário uma maior quantidade de alumina na coluna cromatográfica de adsorção e da mistura de solventes para uma maior redução de lipídios como podemos observar na Tabela 11 que mostra uma maior recuperação do *surrogate* na metodologia 3, que mostrou-se mais eficaz para a análise de HPAs no hepatopâncreas. A alumina tem sido muito utilizada com a finalidade de reduzir o teor de lipídios em amostras de tecidos biológicos por diversos autores (SERICANO, 1990; NUDI et al., 2007)

De acordo com a tabela 11, podemos verificar que a metodologia 1, que foi utilizada H_2SO_4 para redução de lipídios, obteve um resultado da taxa de recuperação da solução padrão abaixo do valor limite de 40 %, isto porque o ácido não reduziu significativamente o teor de lipídios, que interfere na determinação dos analitos de

interesse, além de degradar a composição de alguns hidrocarbonetos, sendo dessa forma, ineficaz para tal prática.

Tabela 12- Taxa de recuperação da solução padrão

Amostra	Met. 1 (rec. %)	Met. 2 (rec. %)	Met. (rec. %)
1	-	6,3	98,0
2	-	1,2	94,0
3	-	3,4	102,6
Média	-	3,6	112,9

Na metodologia 2 houve recuperação de 3,6 % e na metodologia 3 a média da porcentagem de recuperação passou para 112,9 %. Nudi et al., 2007 em seu artigo intitulado Validação de caranguejos *Ucides cordatus* como bioindicador de poluição por óleo em manguezais da Baía de Guanabara, encontraram valores da recuperação do *surrogate, p terphenyl d-14*, que variaram de 63-83%.

5.3.2 Determinação de HPAS no hepatopâncreas

Os resultados obtidos mostraram uma maior quantidade de contaminação nos caranguejos do estuário do rio São Paulo, no período reprodutivo (dezembro), possivelmente devido ao período seco ser mais favorável ao transporte atmosférico de resíduos para o sedimento, matriz de contato por quase todo o ano, onde o *U. cordatus* permanece em suas galerias. Este resultado corrobora com a análise realizada por OROS; ROSS (2004) onde afirmam que o transporte atmosférico é uma importante via de deslocamento dos HPAs em seu estudo realizado no estuário de San Francisco para verificar o teor de HPAs no sedimento.

Tabela 13- Valores de concentração dos HPAs encontrados no hepatopâncreas do *U. cordatus*

	Jag. 1	Jag. 2	SP1	SP2
HPAs	PC	OS	PC	OS
NAF	135,86	135,86	104,18	239,85
AcNf	23,52	3,85	4,61	65,70
Acn	26,31	61,04	26,05	199,64
Fl	44,06	6,49	22,37	30,79
Fen	62,94	15,97	47,49	50,25
A.n	36,84	1,54	30,25	78,09
Flu	98,84	6,79	52,66	125,69
Pir	87,90	6,54	90,71	409,08
BaA	26,81	1,01	25,21	30,87

Cri	25,42	10,70	33,36	755,93
BbFla	28,42	2,47	68,32	170,38
BkFla	21,04	18,52	21,64	121,94
BaP	36,75	3,03	30,53	86,54
IP	1,36	1,23	14,50	2,91
DBahA	0,9	1,63	10,81	9,60
BghiP	1,77	44,61	14,45	11,96
ΣHPAs	658,653	534,41	1991,02	3006,43

Legenda: PC= período chuvoso, PS = período seco, Jag 1 = primeira campanha realizada no estuário do rio Jaguaripe, Jag. 2= segunda campanha realizada no estuário do rio Jaguaripe, SP 1 = primeira campanha realizada no estuário do rio São Paulo, SP 2= segunda campanha realizada no estuário do rio São Paulo

A quase totalidade dos trabalhos utilizando o *U. cordatus* como bioindicador é realizado através da análise da urina deste crustáceo, devido a capacidade de metabolizar os compostos de HPAs em componentes polares excretados pela urina como o escrito por Sette et al., 2014, Pinheiro et al., 2009 e Nudi et al., 2009.

As concentrações de HPAs no estuário do rio Jaguaripe variaram de 0,9- 135,86 % nas estações chuvosa e seca, respectivamente. Já as concentrações dos HPAs no estuário do rio São Paulo variaram de 4,61- 755,93 %. No artigo intitulado *Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records*, os autores Nudi et al., 2007 encontraram valores de concentrações de HPAs no hepatopâncreas mais elevados que variaram de 206 a 62,000 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

5.3.3 Análise de componentes principais para hepatopâncreas

Foi realizada a Análise de Componentes Principais (PCA) para verificar o teor de HPAs presentes nos hepatopâncreas das amostras estudadas.

O primeiro componente principal explicou 52% da variância total dos dados, enquanto que o segundo componente explicou 15% da variância total dos dados (Tabela 14; Figura 13). Juntos os dois primeiros componentes principais explicaram 67% da variância dos dados, conferindo significativo estatístico a esta análise, já que o desejável é uma explicabilidade superior a 60% da variância (LEPS; SMILAUER, 1998).

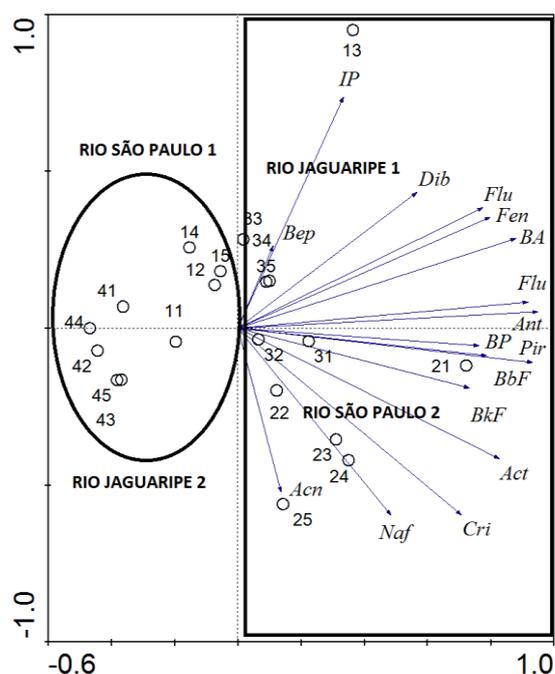
Tabela 14- Explicabilidade da Análise de Componentes Principais baseado nos hidrocarbonetos presentes no hepatopâncreas dos rios São Paulo e Jaguaripe, Baía de Todos os Santos, Bahia

COMPONENTES	PERCENTAGEM (%)	P. ACUMULADA (%)
1	0,516	52
2	0,149	67
3	0,128	79
4	0,064	86

A separação espacial das estações de amostragem foi consequência das diferenças existentes no gradiente promovido pelas concentrações de hidrocarbonetos, entre os dois rios e entre os períodos de amostragem.

O estuário do rio São Paulo no período chuvoso, representado pelos pontos: 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; 1,5 e o estuário do rio Jaguaripe, no período seco, representados pelos pontos: 4,1; 4,2; 4,3; 4,4; 4,5 apresentaram as menores concentrações entre os HPAs estudados (Figura 13). O estuário do rio São Paulo, no período seco e o estuário do rio Jaguaripe, no período chuvoso, apresentaram as maiores concentrações entre os HPAs analisados (Figura 13).

Figura 13- Projeção dos dois primeiros componentes principais baseado nos hidrocarbonetos presentes no hepatopâncreas dos rios São Paulo e Jaguaripe, Baía de Todos os Santos, Bahia



Legenda: Naf = naftaleno, Act = Acenaftileno, Acn = Acenafteno, Fl = Fluoreno, Fen = Fenantreno, Ant = Antraceno, Flu = Fluoranteno, Pir = Pireno, Ba = Benzo (a) antraceno, Cri = Criseno, Bbf = benzo (b) fluoranteno, Bkf = Benzo (k) fluoranteno, Bp = Benzo (a) pireno, IP = Indeno (123cd) pireno, Dib = Dibenzo (ah) antraceno, Bep = benzo (ghi) perileno

O estuário do rio São Paulo no período chuvoso, representado pelos pontos: 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; 1,5 e o estuário do rio Jaguaripe, no período seco, representados pelos pontos: 4,1; 4,2; 4,3; 4,4; 4,5 apresentaram as menores concentrações entre os HPAs estudados (Figura 13). O estuário do rio São Paulo, no período seco e o estuário do rio Jaguaripe, no período chuvoso, apresentaram as maiores concentrações entre os HPAs analisados (Figura 13).

5.3.4 Análise de redundância de HPAs e biometria

Os HPAs analisados presentes no hepatopâncreas que mais contribuíram para a explicabilidade do gradiente ambiental foram: Act, Dib, Flu, Flo, Ant, IP e Cri. As demais frações apresentaram pouca contribuição para o gradiente. Os testes de Monte Carlo (Tabela 15) apresentaram a significância estatística do primeiro eixo de ordenação ($p < 0,05$) e da soma de todos os eixos ($p < 0,05$), validando estatisticamente os resultados obtidos, que desta forma poderão ser usados para inferir sobre a população. A soma de todos os autovalores (0.97), quando comparada com a inércia (1.0), aponta uma proporção de 97 % o que indica a muito boa qualidade desta análise (Tabela 15). Uma proporção inferior a 20% poderia refletir um efeito restritivo da construção do relacionamento ambiental dentro do modelo da Análise de Redundância.

Os autovalores fornecem uma medida da importância dos eixos da AR, podendo variar entre 0 e 1. Desta forma a maior parte da explicabilidade desta análise (Tabela 15) esta contida no primeiro eixo (0.87), pois os outros eixos apresentaram baixos valores ($<0,1$). A correlação entre espécies e ambiente (Tabela 15), que também varia entre 0 e 1, apresentou valores muito elevados nos eixos 1, 2 e 3 ($>0,9$).

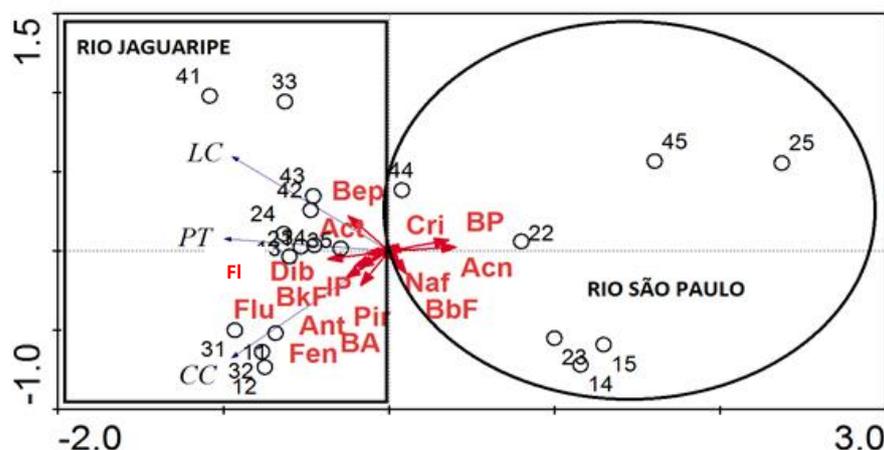
Tabela 15- Resumo da Análise de Redundância, entre as espécies de hidrocarbonetos no hepatopâncreas e as estimativas biométricas

EIXOS	1	2	3	4
Autovalor	0,873	0,074	0,024	0,025
Correlação espécie-ambiente	0,986	0,978	0,985	0,000
Variância % acumulada das espécies	87,3	94,7	97,1	99,7
	90	98	100	0,0
Variância % acumulada da relação espécie-ambiente				
Inércia				1
Soma dos autovalores				0,97
Teste de Monte Carlo: Eixo 1				p-valor=0,03

Legenda: CC=comprimento da carapaça; LC= largura da carapaça; PT = peso total

O diagrama de ordenação (Figura 14) foi elaborado com os dois primeiros eixos da Análise de Redundância, pois juntos eles explicaram 98% da variância acumulada da relação espécie-ambiente. Neste diagrama as amostras foram agrupadas em função do gradiente geoquímico gerado pelos diferentes compostos de HPAs e pelas variáveis biométricas. Assim, as estações do estuário do rio São Paulo, associadas aos menores valores biométricos (caranguejos menores), foram fortemente influenciadas pelas maiores concentrações dos seguintes hidrocarbonetos: criseno, acenafteno. Benzo (a) pireno, naftaleno e benzo (b) fluoranteno. Já as estações de amostragem do estuário do rio Jaguaripe, estiveram vinculadas aos maiores valores biométricos (caranguejos maiores), foram fortemente influenciadas pelas maiores concentrações dos outros compostos de HPAs.

Figura 14- Diagrama de ordenação da Análise de Redundância (RDA) entre HPAs e as estimativas biométricas



Legenda: CC= comprimento da carapaça, LC= largura da carapaça, PT= peso total, Naf = naftaleno, Act = Acenaftileno, Acn = Acenafteno, Fl = Fluoreno, Fen = Fenantreno, Ant = Antraceno, Flu = Fluoranteno, Pir = Pireno, Ba = Benzo (a) antraceno, Cri = Criseno, Bbf = benzo (b) fluoranteno, Bkf = Benzo (k) fluoranteno, Bp = Benzo (a) pireno, IP = Indeno (123cd) pireno, Dib = Dibenzo (ah) antraceno, Bep = benzo (ghi) perileno

5.4 CONCLUSÕES

Por meio dos experimentos, pode-se concluir que ao utilizar uma maior quantidade de solvente polar (50 mL de diclorometano) e uma maior quantidade de alumina (16 g) no empacotamento da coluna, houve uma maior retenção de gordura na coluna, sendo eluído apenas os componentes analíticos de interesse, ou seja, os HPAs.

Desse modo, a metodologia 3 apresentou-se mais eficaz no objetivo do presente estudo para remoção destes compostos interferentes.

As concentrações dos teores de HPAs no hepatopâncreas encontrados nos estuários estudados mostram que o *Ucides cordatus* é um bom bioindicador e bioacumulador de HPAs, pois este crustáceo possui um mecanismo capaz de metabolizar os HPAs em substâncias menos tóxicas e excretar na urina. Como foi encontrado compostos de HPAs neste tecido biológico, isto é um indicativo de que os estuários estudados estão tendo contaminação constante.

Pelos resultados obtidos podemos inferir que as concentrações de HPAs influenciam negativamente no tamanho dos caranguejos, uma vez que os menores indivíduos foram capturados no estuário do rio São Paulo, que apresentou as maiores concentrações de hidrocarbonetos.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados do presente estudo mostraram que os HPAs identificados em ambos os estuários são de alto peso molecular, não carcinogênicos e de origem pirogênica.

Os resultados obtidos nas três razões diagnósticas empregadas para verificar a origem dos HPAs foram similares, apontando para uma fonte pirogênica, possivelmente oriunda de efluentes domésticos e indústrias presentes em ambos os estuários estudados, ou da proximidade com estradas em que o fluxo de veículos é intenso.

De acordo com a resolução CONAMA 454\2012 pode-se concluir que os sedimentos dos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe se encontram em baixas concentrações indicando que não há contaminação por HPAs nas áreas analisadas.

Deste modo, recomenda-se um programa de monitoramento adequado para estes estuários visando à conservação ambiental por meio de ações preventivas e correta destinação dos efluentes, já que a BTS é uma área de importantes atividades, tais como o turismo, lazer, pesca e mariscagem.

Por meio dos experimentos, pode-se concluir que ao utilizar uma maior quantidade de solvente polar (50 mL de diclorometano) e uma maior quantidade de alumina (16 g) no empacotamento da coluna, houve uma maior retenção de gordura na coluna, sendo eluído apenas os componentes analíticos de interesse, ou seja, os HPAs. Desse modo, a metodologia 3 apresentou-se mais eficaz no objetivo do presente estudo para remoção destes compostos interferentes.

As concentrações dos teores de HPAs no hepatopâncreas encontrados nos estuários estudados mostram que o *Ucides cordatus* é um bom bioindicador e bioacumulador de HPAs, pois este crustáceo possui um mecanismo capaz de metabolizar os HPAs em substâncias menos tóxicas e excretar na urina. Como foi encontrado compostos de HPAs neste tecido biológico, isto é um indicativo de que os estuários estudados estão tendo contaminação constante.

Pelos resultados obtidos podemos inferir que as concentrações de HPAs influenciam negativamente no tamanho dos caranguejos, uma vez que os menores indivíduos foram capturados no estuário do rio São Paulo, que apresentou as maiores concentrações de hidrocarbonetos.

REFERÊNCIAS

- AYRES, M., AYRES Jr., M., AYRES, D.L. & SANTOS, A.S. **BioEstat 2.0.:** aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, v. 1, n.1, p. 272, 2000.
- AZEVEDO, J.A.H., ARAÚJO R.S., SILVA G.M.M. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos atmosféricos de fontes automotivas: uma breve revisão. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 29, n.1, 2013.
- BAHIA, CRA. **Diagnóstico do grau de contaminação da Baía de Todos os Santos por metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo a partir da análise das suas concentrações nos sedimentos de fundo e biota associada.** Salvador: CRA, 2004. 366 p. (Relatório Técnico).
- BAUMARD, P.; BUDZINSKY, H.; GARRIGUES, P.; DIZER, H.; HANSEN, P. D. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilusedulis*) from the Western Baltic Sea: occurrence, bioavailability and seasonal variations. **Marine Environmental Research**, v. 47, n. 1, p. 17-47, 1999.
- BERNER, B.A.JR.; BRYNER, N.P.; WISE, S.A.; MULHOLLAND G. H., LAO, R.C.; FINGAS, M. F Polycyclic aromatic hydrocarbon emission from combustion of crude oil in water. **Environmental Science and Technology**, n. 24, p. 1418- 1427, 1990.
- BITTENCOURT, A.C.S.P., LESSA, G.C., DOMINGUEZ, J.M.L., MARTIN, L., Vilas-Boas, G.S., FARIAS, F.F. High and low frequency erosive and constructive cycles in estuarine beaches: an example from Garcez Point, Bahia / Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 73, n. 4, p. 599-610, 2001.
- BUDZINSKI, H.; JONES, I; BELLOCQ, J.; PIERRAD, C.; GARRIGUES, P. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. **Marine Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 85- 97, 1997.
- CARUSO M. S. F; ALABURDA J. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos- benzo (a) pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 1, p. 67, 2008.
- COELHO, P.A. Crustáceos Decápodes de Valor Comercial no Estado de Pernambuco. **Bol. Est. Pesca**, Recife, v. 2, n. 3, p. 17-18, 1962.
- CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução n° 454 de 1 de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/>>. Acesso em 01de março de 2016.
- HADLICH, G. M., UCHA, J. M. Apicuns: Aspectos gerais, evolução recente e mudanças climáticas globais. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v.10, n. 2, p. 13-20, 2009.
- HE, X.; PANG, Y.; SONG, X.; CHEN, B.; FENG, Z.; MA, Y. Distribution, sources and ecological risk assessment of PAHs in surface sediments from Guan River Estuary, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 80, n. 1, p. 52- 58, 2014.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. "Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures." **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans/World Health Organization, International Agency for Research on Cancer**. v. 92, p. 1, 2010.

LE BIHANIC, F.; MORIN, B.; COUSIN, X.; LE MENACH, K.; BUDZINSKY, H.; CACHOT, J. Developmental toxicity of PAHs mixtures in fish early life stages. Part I: adverse effects in rainbow trout. **Environ Science Pollut**, v. 21, n. 24, 2014.

LEPS, A.; SMILAUER, P. **Canoco Reference Manual User's Guide to Canoco for Windows**. Ithaca: Microcomputer Power, p. 352, 1998.

MELO, G.A.S. **Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro**. 1 ed. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 595, n. 81, p. 497, 1996.

MOREIRA, I. T. A.; OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, O. M. C.; TRIGUIS, J. A.; QUEIROZ, A.F.S. MARTINS, C.M.S.; FALCÃO, B.A. Phytoremediation in mangrove sediments impacted by persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) using *Avicennia Schaueriana*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 67, n. 31, 2013.

NOTTAR, M.; LESKOVSEK, H.; FAGANELI, J. Composition, distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of the gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 1, p. 36- 44, 2001.

NUDI, A.H.; WAGENER, A.L. R.; FRANCIONI, E; SCOFIELD, A.L.; SETTE, C.B; VEIGA, A. Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records. **Environment International**. V. 33, n. 3, p. 315-327, 2007.

OFIARA, D.D.; SENECA, J.J. Biological effects and subsequent economic effects and losses from marine pollution and degradations in marine environments: Implications from the literature. **Marine Pollution Bulletin**, v.52, n.8 ,844–864, 2006.

ONOFRE, C.R.E., CELINO, J.J; NANO R.M.W; QUEIROZ, A.F.S. Biodisponibilidade de metais traço nos sedimentos de manguezais da porção norte da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. V.7, nº 2, 2007.

OROS, D.R.; ROSS, J.R.M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in San Francisco Estuary sediments. **Marine Chemistry**, v. 86, n. 3, p. 169 - 184, 2004.

PAIVA, M.P. Sumário de Informações sobre os Crustáceos de Valor Comercial do Norte e Nordeste do Brasil. **Anuário da Pesca**, São Paulo, p. 97-104, 1970.

PINHEIRO, M.A.A; DUARTE, T.R.; TOLEDO, T.R.; ADAM, M.L.; TORRES, R.A. Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucidae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. **Environ Monit Assess**. V. 185, n. 10, p. 8273- 8285, 2009.

POLIDORO B.A., CARPENTER K.E., COLINS L., DUKE N.C., ELLISON A.M., ELLISON J.C., FRANSWORTH E.J., FERNANDO E.S., KATHERIERSAN K., KOEDAN N.E., LIVINGSTONE S.R., MIYAGI T., MOORE G.E., NAM V.N., ONG J.E., PRIMAVERA J.H., The lost of species: Mangrove and geographic areas of global concern. **Journal plosone**, v. 5, n. 4, p. 1095, 2010.

- SERICANO, J.L. Quantitative determination of chlorinated hydrocarbons by gas chromatography/ electron capture detection. **Geochemical and Environmental Research Group**, Standard Operating Procedures (SOP- 9810), V 2, p 21, 1998.
- SILVA, S.M.T. Avaliação da contaminação por HPAs individuais e totais em sedimentos de mesolitoral na Baía de Todos os Santos – **Dissertação de Mestrado** - Química Analítica - IQ/UFBA, Salvador, p.109, 2002.
- SILVA, S.M.T., BERETTA, M. TAVARES, T.M. Diagnóstico da contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos nos sedimentos de mesolitoral da Baía de Todos os Santos, Brasil. **Revista eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais (GESTA)**, Salvador, v.2, n.2, p. 193-204, 2014.
- SOCLO, H.H.; GARRIGUES, P.H.; EWALD, M. Origino of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin*, n° 40, p. 387- 396, 2000.
- TÁVORA, B.S. Monitoramento de mudas de plantas manguezal, *Rhizophora mangle* replantadas em áreas degradadas, na região do rio santo amaro, no Município do Guarujá/SP. **Revista Ceciliana**, São Paulo, v. 3, n.1, p. 37-39, 2011.
- WALKER, D.; MICHEL, K.; COLEMAN, J.C.; MICHEL, J. **Oil in the sea: changes in the nature of sources and inputs since 1985**. International Oil Spill Conference, British Columbia, Canadá, v. 2003, n. 1, 2003.
- WITT, G. Polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, n. 31, p. 237-248, 1995.
- YANCHESHMEH. R.A.; BAKHTIARI, A.R.; MORTAZAVI, S.; SAVABIEASFAHANI, M. Sediment PAH: Contrasting levels in the Caspian Sea and Anzali Wetland. *Marine Pollution Bulletin*, v. 84, n. 1, p. 391 – 400, 2014.
- YUNKER, M.B.; MACDONALD, R.W.; VINGARZAN, R.; MITCHELL, R.H., GOYETTE, D.; SYLVESTRE, S. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. **Organic Geochemistry**, v. 33, n. 4, p. 489 - 515, 2002.