

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE HIDROCARBONETOS E METAIS
PESADOS EM MEXILHÕES (*Perna perna*, *Linnaeus 1758*) NA REGIÃO
LITORAL DE MACAÉ**

Igor Ulhoa Santiago

Macaé/RJ

2014



AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE HIDROCARBONETOS E METAIS
PESADOS EM MEXILHÕES (*Perna perna*, *Linnaeus 1758*) NA REGIÃO LITORAL
DE MACAÉ

Igor Ulhoa Santiago

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Socioambiental de Macaé da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Aricelso Maia Limaverde Filho.

Macaé/RJ

2014

AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE HIDROCARBONETOS E METAIS
PESADOS EM MEXILHÕES (*Perna perna*, *Linnaeus 1758*) NA REGIÃO LITORAL
DE MACAÉ

Igor Ulhoa Santiago

Orientador: Prof. Dr. Aricelso Maia Limaverde Filho.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Núcleo em Ecologia e Desenvolvimentos Sócio-Ambiental de Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Aprovado por:

Presidente, Dr. Aricelso Maia Limaverde Filho.

Prof. Dra. Adriana Haddad Nudi

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Maurício Mussi Molisani

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Campus Macaé

Macaé/RJ

2014

Santiago, Igor Ulhoa.

Avaliação da ocorrência de hidrocarbonetos e metais pesados em mexilhões (*Perna perna*, Linnaeus 1758) na região litoral de Macaé / Igor Ulhoa Santiago.

- Rio de Janeiro: UFRJ/ NUPEM, 2014.

xi, 86f.: il.; 31 cm.

Orientador: Aricelso Maia Limaverde Filho.

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ NUPEM/ Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação.

Referências Bibliográficas: f. 74-85.

1. Poluição. 2. Recursos Hídricos. 3. Petróleo. 4. Mexilhão. 5. Biomarcador. 6. Rio de Janeiro 7. Metal Pesado. 8. Macaé. I. Santiago, Igor Ulhoa. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Núcleo de Pesquisa em Ecologia e Desenvolvimento Sócio Ambiental de Macaé. III. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste estudo. Em especial à minha mãe Mara, pelo apoio incondicional e grande interesse em ajudar, entender, palpitar; ao meu pai Guga, pelo apoio e compreensão dos meus tempos gastos fora do trabalho; aos meus irmãos Dundi, Guti, Sosó e Gui, pela alegria e ótima companhia; ao meu avô Zezé.

Aos professores do PPGCIAC, que acrescentaram imensuráveis conhecimentos em minha vivência. Agradeço especialmente ao meu orientador Ari, por estes longos dois anos de discussão e construção do trabalho; ao Rodrigo Lemes, que foi o meu contato para ingressar no programa; ao Maurício, que contribuiu em várias etapas, atividades e aquisições.

A todos os amigos do PPGCIAC e de Macaé; em especial à Sil, sempre disposta a ajudar, Gaúcho, Biel, grandes amigos do condomínio do pecado; à Aline, Bruna, Mari, Lana, Nat; pelos bons momentos em Macaé.

Ao pessoal do LABMAM na PUC-RIO: Miagui, Gton, Ivy, Celso, Núbia, Adriana, Scott; pela grande ajuda no laboratório e pela paciência.

Aos meus bons e velhos amigos de Belo Horizonte.

Ao CENPES pelo apoio financeiro através da concessão de bolsa para este projeto.

RESUMO

SANTIAGO, Igor Ulhoa. LIMAVERDE FILHO, Aricelso Maia (Orientador). **Avaliação da ocorrência de hidrocarbonetos e metais pesados em mexilhões (*Perna perna*, Linnaeus 1758) na região litoral de Macaé.** 81p. 2014. (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação / Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Este estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência e distribuição de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e Metais Pesados em mexilhões *Perna perna*, Linnaeus 1758 em duas campanhas, realizadas em março e agosto de 2013, em quatro pontos da região litorânea de Macaé/RJ: EM – Estuário Macaé; PC – Praia Campista; IS – Ilha de Santana; PI - Pedras Imboassica. Os HPAs e os Metais Pesados foram determinados em triplicata em cada estação, através de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS), e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), respectivamente. As análises de HPAs totalizaram 38 elementos entre parentais e alquilados, as de Metais Pesados totalizaram 9 elementos (Alumínio, Cromo, Manganês, Ferro, Níquel, Cobre, Zinco, Cádmio, Chumbo). As concentrações de HPAs foram as seguintes: EM1 $2.881,25 \text{ ng.g}^{-1} \pm 40,35$; EM2 $6.019,19 \text{ ng.g}^{-1} \pm 1778,46$; PC1 $222,47 \text{ ng.g}^{-1} \pm 15,22$; PC2 $381,65 \text{ ng.g}^{-1} \pm 225,34$; IS1 $78,97 \text{ ng.g}^{-1} \pm 15,11$; IS2 $310,57 \text{ ng.g}^{-1} \pm 130,71$; PI1 $98,06 \text{ ng.g}^{-1} \pm 36,80$; PI2 $161,92 \text{ ng.g}^{-1} \pm 51,17$. Com isso observou-se três diferentes padrões de contaminação: (1) baixa a moderada nos pontos PI (61 a 162 ng.g^{-1}) e IS (79 a 310 ng.g^{-1}); (2) moderada no ponto PC (222 a 382 ng.g^{-1}); (3) alta no EM (2.881 a 6.019 ng.g^{-1}). Em relação aos Metais Pesados verificou-se as seguintes concentrações: Al (334,24 a $1353,85 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Cr (0,76 a $2,5 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Mn (8,73 a $18,49 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Fe (224,42 a $743,46 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Ni (8,61 a $13,10 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Cu (4,11- $6,24 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Zn (98,25 a $120,04 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Cd (0,29 a $0,65 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$); Pb (0,35 a $0,90 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$). Esses resultados indicaram contaminação por metais pesados acima das Concentrações Máximas Permitidas em todos os pontos em relação ao elemento Cromo. Não houve diferenciação significativa em nenhum dos pontos em relação aos metais pesados. Em relação aos HPAs, o Antraceno apresentou concentrações acima dos limites mínimos no ponto EM. As diversas relações e indicadores aplicadas com o objetivo de se constatar as possíveis fontes de contaminação indicaram ora origens pirolíticas ora petrogênicas para todos os pontos,

com exceção do Ilha de Santana, onde predominou substancialmente indícios de origem petrogênica. Assim sendo, para os pontos Estuário Macaé, Praia Campista e Pedras Imboassica concluiu-se o caráter de uma mistura de fontes de poluição.

Palavras-chave: Hidrocarbonetos Policíclico Aromáticos. Metais Pesados. Mexilhão. Macaé. Rio de Janeiro.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the presence and distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and Trace Metals in *Perna perna Linnaeus* 1758 mussels in two sampling seasons, conducted in march and october of 2013, in four points of Macaé's (Rio de Janeiro) coastal region: EM – Estuário Macaé (22°22'26,4''S; 41°46'21,9''W); PC – Praia Campista (22°23'25,17''S; 41°46'04,31''W); IS – Ilha de Santana (22° 24' 20,12''S; 41° 42' 07,6''W); PI - Pedras Imboassica (22°25'32,09''S; 41°49'44,33''W). The PAHs and Trace Metals were determined in triplicate at each station, through Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS), and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, respectively. PAHs analysis reached 38 elements among parental and alkylated, and Trace Metals reached 9 elements (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb). The PAHs concentrations were as follows: EM1 2.881,25 ng.g⁻¹ ± 40,35; EM2 6.019,19 ng.g⁻¹ ± 1778,46; PC1 222,47 ng.g⁻¹ ± 15,22; PC2 381,65 ng.g⁻¹ ± 225,34; IS1 78,97 ng.g⁻¹ ± 15,11; IS2 310,57 ng.g⁻¹ ± 130,71; PI1 98,06 ng.g⁻¹ ± 36,80; PI2 161,92 ng.g⁻¹ ± 51,17. Three different patterns of contamination were observed: (1) low to moderate PI (61 a 162 ng.g⁻¹) and IS (79 a 310 ng.g⁻¹); (2) moderate PC (222 a 382 ng.g⁻¹); (3) high EM (2.881 a 6.019 ng.g⁻¹). Regarding to Trace Metals, the concentrations observed were as follows: Al (334,24 a 1353,85 µg.g⁻¹); Cr (0,76 a 2,5 µg.g⁻¹); Mn (8,73 a 18,49 µg.g⁻¹); Fe (224,42 a 743,46 µg.g⁻¹); Ni (8,61 a 13,10 µg.g⁻¹); Cu (4,11-6,24 µg.g⁻¹); Zn (98,25 a 120,04 µg.g⁻¹); Cd (0,29 a 0,65 µg.g⁻¹); Pb (0,35 a 0,90 µg.g⁻¹). These results indicated trace metals contamination above the Maximum Allowable Concentrations at all points regarding Chromium. There was no significant difference in any of the points in relation to heavy metals. Regarding PAHs, the Anthracene showed concentrations above the thresholds in point EM. The various relations and indicators applied in order to find possible sources of contamination indicated at times pyrolytics at other petrogenic sources at all stations, with exception of Ilha de Santana, where substantially prevailed evidence of petrogenic sources. Therefore, it was concluded that there is a mixture of pollution sources at Estuário Macaé, Praia Campista and Pedras Imboassica.

Keywords: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Trace Metals. Mussel. Macaé. Rio de Janeiro.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais Características Morfológicas – <i>Perna perna L.</i>	18
Figura 2 - Anatomia Interna – <i>Perna perna L.</i>	18
Figura 3 - Ocorrências do Mexilhão <i>Perna Perna</i>	19
Figura 4 - Localização do Ponto Estuário Macaé (EM)	38
Figura 5 - Localização do Ponto Praia Campista (PC).....	39
Figura 6 – Localização do Ponto Ilha de Santana (IS)	40
Figura 7 - Localização do Ponto Pedras Imboassica (PI).....	41
Figura 8 - Concentrações Individuais de HPAs.....	56
Figura 9 - Percentual de HPAs Leves e Pesados	57
Figura 10 - Concentrações dos HPAs Alquilados Homólogos Naftaleno e Criseno Características de Fontes Petrogênicas (barra clara) e Pirolíticas (barra escura).	59
Figura 11 - HPAs - Análise das Componentes Principais – Coleta 01.....	61
Figura 12 - HPAs - Análise das Componentes Principais – Coleta 02.....	62
Figura 13 - Concentrações Médias de Metais Pesados e Desvios Padrões	65
Figura 14 - Metais Pesados - Análise das Componentes Principais – Coleta 01	66
Figura 15 - Metais Pesados - Análise das Componentes Principais – Coleta 02	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fontes, Efeitos e Concentrações de Íons Metálicos.	22
Tabela 2 - Locais de Concentração de Metais Pesados em Bivalves	26
Tabela 3 - Propriedades Físico-Químicas dos 16 HPAs Prioritários.....	30
Tabela 4 - Mutagenicidade e Carcinogenicidade de HPAs	35
Tabela 5 - Concentrações de Baixo Efeito (CBE) e de Médio Efeito (CME).....	36
Tabela 6 - Equipamentos e Condições para análise de HPAs	46
Tabela 7 - Teor de Lipídeos dos Mexilhões em Diferentes Pontos e Épocas	49
Tabela 8 - Concentração de HPAs (ng g^{-1} , peso seco) nos mexilhões coletas 1 e 2	51
Tabela 9 - Comparação da concentração de HPAs em estudos com mexilhões <i>Perna perna</i>	53
Tabela 10 - Metodologias de Análises das Origens dos HPAs	58
Tabela 11 - Limites de Concentrações de HPAs em Alimentos para Ingestão (peso seco ng.g^{-1}).....	63
Tabela 12 - Concentrações Médias de Metais Pesados com Respective Desvios Padrões ($\mu\text{g/g}$)	64
Tabela 13 - Metais Pesados em Mexilhões - Presente Estudo x Estudos Anteriores ($\mu\text{g/g}$ peso seco)	68
Tabela 14 - Metais Pesados em Organismos - Presente Estudo x Estudos Internacionais ($\mu\text{g/g}$ peso seco).....	69
Tabela 15 - Metais Pesados em Mexilhões – Ilha de Santana ($\mu\text{g/g}$ peso seco)	69

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	16
2.1.	Objetivo Geral	16
2.2.	Objetivos Específicos.....	16
3.	EMBASAMENTO TEÓRICO	17
3.1.	Mexilhões <i>Perna perna</i>	17
3.1.1.	Biomarcadores de Poluição.....	19
3.1.2.	Mexilhões: Biomarcadores de Poluição	20
3.2.	Metais Pesados	22
3.2.1.	Toxicidade e Comportamento em Meio Aquático	22
3.2.2.	Origens dos Metais Pesados	24
3.2.3.	Formas de Fixação e Assimilação de Metais Pesados	25
3.2.4.	Concentrações de Metais Pesados em Mexilhões <i>Perna perna</i>	28
3.3.	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)	28
3.3.1.	Origens dos Hidrocarbonetos Policíclico Aromáticos (HPAs).....	28
3.3.2.	Propriedades Físico-Químicas dos HPAs	29
3.3.3.	Fontes dos HPAs e Comportamento no Ambiente Marinho	32
3.3.3.1.	Fontes Naturais.....	32
3.3.3.2.	Fontes Antropogênicas.....	32
3.3.4.	Identificação da Proveniência de HPAs.....	33
3.3.5.	Hidrocarbonetos no Oceano	34
3.3.6.	Propriedades Tóxicas dos HPAs.....	34
4.	ÁREA DE ESTUDO	37
4.1.	Estuário Rio Macaé.....	37
4.2.	Praia Campista.....	38
4.3.	Arquipélago de Santana	40
4.4.	Pedras Imboassica	41
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	42
5.1.	Amostragem e Preparação das Amostras	42
5.2.	Teor de Umidade.....	42
5.3.	Análise de Hidrocarbonetos Policíclico Aromáticos.....	42

5.3.1.	Extração.....	44
5.3.2.	Teor de Lipídeos	44
5.3.3.	Purificação dos Extratos	45
5.3.4.	Fracionamento	46
5.3.5.	Quantificação dos HPAs	46
5.4.	Análise de Metais Pesados.....	47
5.4.1.	Abertura da Amostra.....	47
5.4.2.	Quantificação dos Metais Pesados	48
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
6.1.	Avaliação regional da contaminação por HPAs no litoral de Macaé/RJ usando mexilhões (<i>Perna perna</i> Lineaus 1758) como biomarcadores	49
6.1.1.	Teor de Lipídeos	49
6.1.2.	Avaliação da Contaminação por HPAs	50
6.1.3.	Avaliação da Origem dos HPAs.....	54
6.1.4.	Análises Estatísticas.....	60
6.1.4.1.	Kruscal-Wallis	60
6.1.4.2.	Análise das Componentes Principais (PCA)	60
6.1.5.	Risco Potencial à Saúde Humana	62
6.1.6.	Risco aos Organismos Marcadores de Poluição.....	63
6.1.7.	Conclusão	64
6.2.	Avaliação regional da contaminação por Metais Pesados no litoral de Macaé/RJ usando mexilhões (<i>Perna perna</i> Lineaus 1758) como biomarcadores	64
6.2.1.	Análises Estatísticas.....	65
6.2.1.1.	Análise das Componentes Principais (PCA)	66
6.2.2.	Avaliação da Contaminação por Metais Pesados	67
6.2.3.	Ilha de Santana.....	69
6.2.4.	Conclusão	70
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	ANEXO A	86

1. INTRODUÇÃO

A pressão das atividades humanas sobre recursos hídricos costeiros vem crescendo continuamente, seja pelo aumento populacional urbano, ou por aquele induzido pela instalação de zonas industriais, como exploração offshore de petróleo e estruturação onshore. Apesar de gerar benefícios econômicos, o aumento de atividades industriais, assim como de comércios e serviços, traz consigo impactos socioambientais. Na maioria dos casos os serviços de saneamento e infraestrutura não acompanham o crescimento populacional, gerando condições de tratamento e disposição final de efluentes (líquidos e sólidos, urbanos e industriais) aquém das necessárias, que é, em sua maioria, lançado *in natura* em cursos d'água continentais e marinhos.

Dentre as substâncias que constituem os efluentes sanitários e industriais estão os metais pesados e os hidrocarbonetos. Em ambos os casos se trata de elementos que podem provir de fontes naturais e antrópicas. Se tratando de metais, podem ser oriundos do intemperismo sofrido pelas rochas (fonte natural), ou de efluentes domésticos e industriais e tráfego de embarcações em regiões portuárias (fonte antrópica). No caso de áreas costeiras densamente povoadas e industrializadas, outra expressiva fonte de contaminação é a deposição atmosférica (O'NEILL, 1998).

Muitos dos metais são considerados essenciais a organismos vivos (cobre, ferro, zinco) por estarem associados a processos metabólicos. No entanto, o mesmo metal pode também ser considerado tóxico se encontrado acima de determinadas concentrações. Os elementos essenciais e não essenciais que, devido às relativas altas concentrações e/ou toxicidade, têm gerado maior preocupação ambiental são: cádmio (Cd), mercúrio (Hg), zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), cromo (Cr), chumbo (Pb), cobalto (Co), vanádio (V), ferro (Fe), manganês (Mn), prata (Ag), e estanho (Sn) (DEPLEDGE et al., 1994).

Quanto ao aporte de hidrocarbonetos ao oceano, também podem ser de diversas fontes: Pirolíticos, petrogênicos, diagênicos ou biogênicos (NEFF, 1979). Os hidrocarbonetos podem ser alifáticos ou aromáticos, sendo os primeiros mais relacionados a fontes naturais, enquanto os últimos a fontes naturais e/ou antrópicas. Esta não é uma regra definida, uma vez que os HPAs podem ser sintetizados por bactérias, plantas ou fungos,

ou também liberados de fendas naturais. Entretanto, a maior parte dos HPAs em ambientes marinhos é associada à pirólise de combustíveis, madeira e carvão, ou derrames de óleo (LAW & BISCAYA, 1994). Dentre os hidrocarbonetos verifica-se maior preocupação ambiental com os petrogênicos, por apresentarem relativa persistência no ambiente, baixa biodegradabilidade, alta lipofilicidade (UNEP, 1991).

Após o início das atividades de exploração de petróleo e gás na Bacia de Campos o município de Macaé vem experimentando constante crescimento populacional, de 47.220 habitantes em 1970 para 217.951 em 2012; e econômico, com taxa anual de crescimento de 6%, comparado aos 0,5% de média do estado do Rio de Janeiro nos últimos dez anos (IBGE, 2012). No entanto, tais taxas de crescimento populacional e econômico fomentadas pela exploração de petróleo e gás na Bacia de Campos não foram acompanhadas por serviços básicos de infraestrutura urbana.

O crescimento populacional ocasiona aumento direto no consumo de água, e, conseqüentemente, incremento da vazão de efluentes líquidos lançados nos corpos d'água, que não são tratados no município. Outras fontes antrópicas de poluentes relacionadas à urbanização são a geração e disposição inadequadas de resíduos sólidos domésticos e industriais, pecuária, deposição atmosférica e escoamento superficial. Por se tratar de uma região costeira, a grande maioria destas fontes de poluentes atinge o ambiente marinho.

Na microrregião de Macaé, mesmo em meio ao grande crescimento econômico impulsionado pela economia do petróleo e ao aumento das emissões de metais pesados e hidrocarbonetos para seus ecossistemas, observa-se ausência de estudos sistemáticos sobre as concentrações de poluentes na área costeira. Em âmbito regional, o desenvolvimento de estudos visando a avaliação do nível de contaminação de diversas localidades da zona costeira do estado do Rio de Janeiro vêm sendo realizados, tendo a maioria deles água e sedimentos como objeto de análise (MOLISANI et al., 2013; COPELAND et al., 2003; CARDOSO et al., 2001). Em alguns estudos tem-se utilizado o mexilhão *Perna perna* como biomarcador do nível de contaminação, seja por metais pesados (CARVALHO et al., 2001; FRANCONI, et al., 2004) como por hidrocarbonetos (YOSHIMINE et al., 2012; FRANCONI et al., 2005). O mexilhão *Perna perna* é um excelente biomarcador de exposição, por apresentar atividade

enzimática muito inferior em comparação à de outros organismos marinhos. Desta forma os compostos são metabolizados e excretados a uma taxa muito baixa, o que permite sua utilização em programas de monitoramento, uma vez que substâncias poluentes como HPAs e metais pesados ficam armazenadas em seu tecido, refletindo assim a situação local (FARRINGTON et al., 1987).

Em estudo realizado na Bacia do Rio Macaé, Molisani et al. (2013) estimou as seguintes contribuições antrópicas em relação ao total: P = 89%, N = 99%, Zn = 62%, Cu = 65%, Cd = 60%. É notável a preponderância das emissões antrópicas sobre as naturais no caso dos elementos acima. Tal relação pode ser expandida ao caso de hidrocarbonetos aromáticos, e os referidos metais pesados do presente estudo.

Além disso, a existência de atividades de extração de petróleo offshore, oleodutos e as atividades portuárias com alta taxa de atracções podem estar impactando as comunidades marinhas e a qualidade da água. De acordo com o “Relatório Anual de Segurança Operacional das Atividades de Exploração e Produção de Petróleo e Gás Natural” da ANP-Agência Nacional do Petróleo, em 2011, apenas o derramamento ocorrido no “Campo do Frade” foi responsável pelo vazamento de 581,1 m³ de petróleo, o que representou 95,5% de todo o óleo derramado naquele ano.

Na costa do município de Macaé foi encontrado apenas um estudo de análise química de metais em tecidos do mexilhão *Perna perna*, realizado por Carvalho et al. (2001), que buscou desenvolver análises em um ponto do Arquipélago de Santana, onde, na ocasião, foi constatada ausência de contaminação por metais pesados. Não foram encontrados estudos semelhantes para Hidrocarbonetos.

O presente estudo propõe analisar a qualidade ambiental da região costeira de Macaé em relação à contaminação por Hidrocarbonetos Policíclico Aromáticos e Metais Pesados (Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn). Para tal foram definidos quatro pontos ao longo da costa com ocorrências naturais de mexilhões *Perna perna*. Buscou-se definir pontos com características naturais e pressões antrópicas distintas, onde, através das análises químicas dos indivíduos, objetivaram retratar o ambiente nos quais estão inseridos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente estudo tem como objetivo principal avaliar a presença de hidrocarbonetos e metais pesados em amostras do molusco bivalve *Perna perna*, *Linnaeus 1758* em quatro pontos de estudo no litoral da costa da região de Macaé.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar o teor médio de metais pesados (Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) no tecido de moluscos bivalves *Perna perna*, em quatro pontos amostrais, distribuídos ao longo da costa da região de Macaé, em duas campanhas sazonais;
- Determinar o teor médio de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no tecido de moluscos bivalves *Perna perna* em quatro pontos amostrais, distribuídos ao longo da costa da região de Macaé, em duas campanhas sazonais;
- Avaliar comparativamente os dados obtidos, tendo como meta a identificação de potenciais fontes de contaminação devido a características naturais e ações antropogênicas na região de estudo;
- Contribuir para implementação de metodologia analítica específica para Metais Pesados e HPAs em tecidos de biota marinha.

3. *EMBASAMENTO TEÓRICO*

3.1. Mexilhões *Perna perna*

O termo mexilhão é exclusivamente utilizado na língua portuguesa para denominar diversas espécies de moluscos da Família Mytilidae, tendo como gêneros mais comuns *Mytilus*, *Perna* e *Mytella*. Dependendo da região no Brasil recebem diversos nomes populares, como marisco, marisco-preto, marisco das pedras, sururu, bacucu (MAGALHÃES, 1985).

O *Perna perna* (Linnaeus, 1758) compreende a seguinte taxonomia:

Filo Mollusca (Linnaeus, 1758)

Classe Bivalvia (Linnaeus, 1758)

Subclasse Pteriomorphia (Beurlen, 1944)

Ordem Mytiloida (Férussac, 1822)

Superfamília Mytiloidea (Rafinesque, 1815)

Família Mytilidae (Rafinesque, 1815)

Subfamília Mytilinae (Rafinesque, 1815)

Gênero *Perna* (Rafinesque, 1815)

Espécie *Perna perna* (Linnaeus, 1758)

Os mexilhões *Perna perna* possuem simetria bilateral, com a existência de duas conchas calcárias, ou valvas, unidas por um material de consistência fibrosa denominada ligamento, que parte do umbo e vai até a região ventral, conforme Figura 1. A fixação nos estratos se dá através dos filamentos do bisso, produzidos pela secreção de várias glândulas localizadas no pé do animal. A concha é lisa, com presença de linhas de crescimento (BAYNE, 1964).

O *Perna perna* tem um tamanho médio de 50 a 80 mm, e pode atingir até 140 mm de comprimento. Externamente não apresenta dimorfismo sexual; internamente, quando maduros, podem ser diferenciados pela coloração das gônadas, brancas nos machos e alaranjadas nas fêmeas (HENRIQUES, 2004).

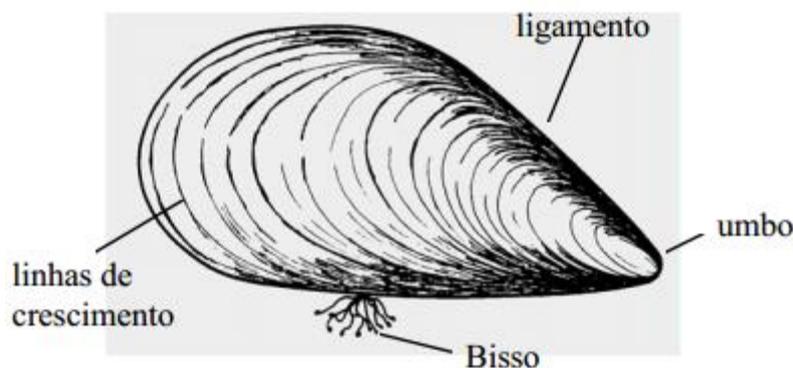


Figura 1 - Principais Características Morfológicas – *Perna perna L.*

Fonte: (FERREIRA & MAGALHÃES, 2010).

Os sifões inalante e exalante são utilizados para a entrada e saída de água respectivamente. As brânquias são responsáveis pela função respiratória e também filtradora de alimentos, que são captados da corrente de água pelo batimento de seus cílios. A capacidade de bombeamento pode variar de 0,5 a 5 litros /hora, e o alimento é constituído basicamente de fitoplâncton, bactérias e detritos orgânicos (MARINÉ, 2007).

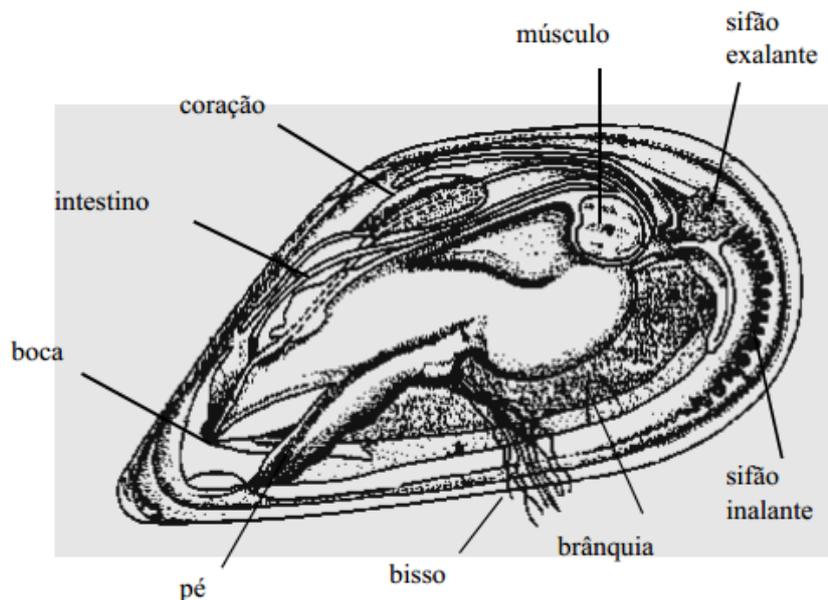


Figura 2 - Anatomia Interna – *Perna perna L.*

Fonte: (FERREIRA & MAGALHÃES, 2010).

Os *Perna perna* vivem aderidos a rochas e quaisquer substratos duros, como cascos de embarcações, pilastras, boias. Preferencialmente habitam o costão rochoso da região entremarés, mais concentrados em regiões com ondas em comparação a locais

abrigados. É uma espécie eurihalina e euritêmica, suportando faixas de salinidade de 19% a 49% (ótima de 34% a 36%) e temperaturas de 5°C a 30°C (ótima de 21°C a 28°C) (RESGALLA, 2008).

No litoral brasileiro está presente do estado do Espírito Santo ao Rio Grande do Sul (SOUZA et al., 2004). A Figura 3 indica locais onde já foram comprovadas ocorrências do mexilhão *Perna perna*. Conforme verificado, a distribuição geográfica do *Perna perna* é muito ampla: na costa Atlântica da América do Sul ocorre da Venezuela ao Uruguai; ocorre no Caribe e Ilhas Canárias (NORDSIECK, 1969); e ainda na África do Sul, Senegal, Mauritânia, Marrocos, dentre outros. Observa-se que a alta distribuição geográfica tem grande importância, por permitir estudos comparativos com áreas distantes e com características distintas.

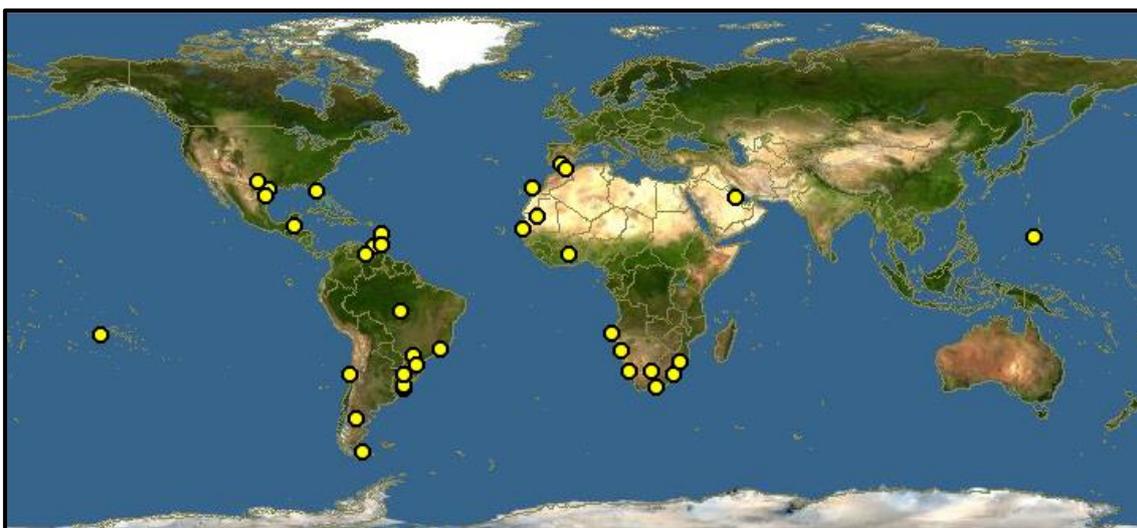


Figura 3 - Ocorrências do Mexilhão *Perna Perna*

Fonte: (DiscoverLife, 2013).

3.1.1. Biomarcadores de Poluição

A saúde humana é afetada por constantes exposições a elementos químicos no ambiente externo, incluindo ar, água, solo e comida. O efeito de tal exposição irá depender da dose, rota do contaminante, duração e frequência de exposição. Para a avaliação da contaminação é comum a utilização de “biomarcadores”, termo que é aplicado em sentido amplo para incluir quase todas as interações entre sistemas biológicos e um

agente ambiental, que pode ser químico, físico ou biológico. Este estudo se limita a discutir apenas agentes químicos, especificamente metais pesados e HPAs. Os biomarcadores também podem ser subdivididos em três categorias (WHO, 1993):

- Biomarcadores de Exposição: realiza-se medição da presença de substâncias exógenas ou dos produtos de seu metabolismo no organismo;
- Biomarcadores de Efeito: investiga-se alterações bioquímicas, fisiológicas, comportamentais no organismo que, dependendo da magnitude, podem ser associadas à presença de contaminantes;
- Biomarcadores de Susceptibilidade: mede-se uma habilidade inerente ou desenvolvida do organismo para responder à exposição a uma determinada substância xenobiótica.

No presente estudo os *Perna perna* serão utilizados como Biomarcadores de Exposição, de forma a se constatar a exposição destes indivíduos a metais pesados e HPAs, provendo uma relação entre as concentrações nos tecidos internos dos mexilhões e aquelas no ambiente externo. Devido à complexidade e variação dos modelos, não serão gerados valores exatos de contaminação ambiental externa, mas será possível relacionar o resultado a outros estudos, fornecendo uma base comparativa de medidas quantitativa e qualitativa das concentrações.

3.1.2. Mexilhões: Biomarcadores de Poluição

Segundo Farrington et al. (1987) os bivalves possuem certas características que os fazem eficazes na utilização em programas de monitoramento. São elas:

- Ampla distribuição geográfica e estabilidade populacional, o que possibilita comparações entre locais distintos e amostragens sucessivas, fornecendo dados de curto a longo períodos, e variações sazonais em concentrações de substâncias químicas;
- Sedentarismo, sendo melhor que espécies móveis como indicadores de poluição em uma determinada área;
- Alta tolerância a poluentes se comparados a peixes e crustáceos;

- Capacidade de concentrar substâncias químicas em fatores de 10^2 a 10^5 em comparação àquelas encontradas na água;
- Espécie de consumo alimentar humano, o que o torna de interesse no setor da saúde pública.

Devido a tais características, os mexilhões vêm sendo amplamente utilizados em pesquisas de poluição e monitoramentos ambientais. Exemplo disso é o programa “Mussel Watch”, proposto por Goldberg em 1975 e ainda em vigor, com o objetivo de monitorar alterações das concentrações de químicos na costa dos Estados Unidos, Grandes Lagos, Porto Rico e Havaí. No Brasil há diversos estudos tanto para Hidrocarbonetos (FRANCIONI et al. 2007; YOSHIMINE et al. 2012; DEL ROSSO, 2005) como para Metais Pesados (AVELAR et al., 2000; BARAJ et al., 2003; KEHRIG et al., 2007; FRANCIONI et al., 2004), que serão abordados adiante nos respectivos capítulos.

3.2. Metais Pesados

Os Metais Pesados são um grupo de elementos com ocorrência natural no ambiente, primordiais na constituição de rochas. O termo metal pesado é utilizado por vários autores com diferentes definições, relacionando-o com as respectivas densidades mínimas dos elementos: 4,5 g/cm³ (GARCIA et al., 1990; in MACÊDO, 2002); 5 g/cm³ (COKER & MATTHEWS, 1983 in MACÊDO, 2002); 6,5 g/cm³ (FERGUSON 1990; in MACÊDO, 2002). Não existe nenhuma definição consensual regulamentada por entidade oficial, havendo, além das densidades, outras bases de definição sugeridas, como massa atômica, número atômico e propriedades químicas, o que promoveu o desenvolvimento de diversas listas.

3.2.1. Toxicidade e Comportamento em Meio Aquático

As principais fontes poluidoras de metais pesados, assim como efeitos no homem são demonstrados na Tabela 1, assim como as concentrações máximas de potabilidade para meios aquáticos, que não podem ser extrapoladas como base para organismos.

Tabela 1 - Fontes, Efeitos e Concentrações de Íons Metálicos.

Íon	Principais Fontes Poluidoras	Efeitos no homem	Potabilidade*
Cádmio	Efluentes industriais, equipamentos eletrônicos, lubrificantes, acessórios fotográficos, combustíveis fósseis.	Anemia, retardamento do crescimento, morte (9 g), disfunção renal, hipertensão, arteriosclerose, câncer e doenças crônicas.	0,005 mg/L
Chumbo	Efluentes industriais, tabaco, tintas, tubulações, metalurgia e indústria de eletrodeposição.	Saturnismo, tontura, irritabilidade, dor de cabeça, perda de memória, deficiências musculares, inflamação gastrointestinal, problemas intestinais.	0,01 mg/L
Cobre	Corrosão de tubulações, esgotos domésticos, fungicidas, pesticidas, mineração, fundição e refino de metais.	Lesões no fígado e intoxicação.	2,0 mg/L
Cromo	Efluentes industriais, produção de alumínio e aço, tintas, pigmentos, explosivos, papel e fotografia.	Alergias, câncer e intoxicação.	0,05 mg/L

Manganês	Fabricação de ligas metálicas, pilhas, palitos de fósforo, vidros, fogos de artifício; indústria química, de couro e têxtil; fertilizante, branqueador, tratamento de doenças da pele, fungicidas, inibidores de fumaça.	Infecção do trato respiratório, pneumonite e efeitos ao sistema nervoso central.	0,1 mg/L
Níquel	Galvanoplastias, mineração, queima de combustíveis fósseis, fundição, produção de ligas metálica e fabricação de alimentos.	Câncer, dermatites, alterações cardíacas e respiratórias.	0,025 mg/L
Zinco	Galvanoplastias, mineração, combustão de madeira, incineração de resíduos, esgotos domésticos e produção de ferro e aço.	Alterações respiratórias, gástricas e cardíacas.	5,0 mg/L

*Ministério da Saúde – Port. n. 518, de 25 de março de 2004. Adaptado de Piveli & Kato(2005).

Na Tabela 1 são analisadas concentrações em recursos hídricos de acordo com o Ministério da Saúde (2004), com o intuito de compreender os possíveis riscos de se ter contaminações, ainda que em pequenas concentrações, por metais pesados. Para se analisar as concentrações encontradas nos mexilhões foram utilizadas outras fontes, como as Concentrações Máximas Permitidas (CMP), conforme Tabela 13.

Quando da ingestão de metais pesados, o mecanismo de toxicidade mais relevante é o de inativação de enzimas. Forstner (1989) cita que todo metal de transição divalente reage prontamente com o grupo amino e das sulfidrilas das proteínas; podendo ocasionar uma competição com elementos essenciais e substituí-los no metabolismo enzimático. Ao agirem como anti-metabólicos ou por formarem precipitados ou quelatos com agentes essenciais, alguns metais podem danificar células.

Ao contrário dos poluentes orgânicos, os metais pesados não são biodegradáveis, podendo acumular-se nos diversos compartimentos ambientais. Desta forma não são eliminados ou metabolizados, sendo bioacumulados ao longo da cadeia alimentar (AZEVEDO & CHASIN, 2003). Além da concentração dos íons metálicos nos ambientes, é necessário avaliar a especiação química dos mesmos, que será fator determinante na magnitude de toxicidade de cada elemento, uma vez que está diretamente relacionada com a mobilidade e biodisponibilidade. O conhecimento da forma de cada elemento no ambiente possibilita o entendimento da ciclagem dos

mesmos no ambiente aquático, fundamental para a compreensão do real impacto de atividades antrópicas.

A maior parte dos metais pesados tem a água como principal via de transporte, podendo ser realizado como elementos dissolvidos, ou associados a partículas sólidas (FORSTNER & WITTMANN, 1981). Os fatores determinantes da solubilidade dos íons metálicos nos corpos hídricos são parâmetros os físico-químicos como pH, alcalinidade, teor de matéria orgânica dissolvida, sólidos em suspensão, oxigênio dissolvido e temperatura. Estas características influenciam todos os estágios de transferência do metal, desde sua fonte até as cadeias alimentares (LAYBAUER, 1995).

3.2.2. Origens dos Metais Pesados

Os metais são constituintes naturais que atingem o ambiente aquático principalmente por descarga fluvial. Podem ser de origens naturais e antrópicas. No primeiro caso, oriundos do intemperismo sofrido pelas rochas, enquanto no segundo, por efluentes domésticos e industriais; e a resultante do tráfego de embarcações quando da existência de instalações portuárias. No caso de áreas costeiras densamente povoadas e industrializadas, outra expressiva fonte de contaminação é a deposição atmosférica (O'NEILL, 1998).

Em estudos de contaminação ambiental é importante se levar em conta os teores naturais de metais pesados, que terá ampla variação de acordo com a formação rochosa de cada região. Devido a tal variação, existe a possibilidade de que os sedimentos e os recursos hídricos de uma região sob suspeita de poluição, sejam produtos da alteração natural de rochas que possuem, em sua origem, altas concentrações de certos metais pesados, não caracterizando o impacto antrópico. Por outro lado, embora seja comum os metais em baixas concentrações na natureza, as atividades antrópicas têm contribuído para significativos aumentos de suas concentrações em sedimentos, cursos d'água e biota.

3.2.3. Formas de Fixação e Assimilação de Metais Pesados

A água oceânica é considerada um sumidouro de poluentes. Neste ambiente os contaminantes podem chegar pela contribuição fluvial, atmosférica ou de fontes hidrotermais (SALOMONS & FORSTNER, 1984). Neste meio os metais pesados se encontram adsorvidos a materiais particulados ou dissolvidos na água. Ao se alimentarem por filtração, os mexilhões acabam ingerindo tais compostos (PHILLIPS, 1995).

A concentração de bioacumulação está diretamente relacionada às características de cada metal. Rebelo et al. (2003) exemplifica o caso do zinco, um micronutriente, que é bioacumulado gerando concentrações na casa de $80.000 \mu\text{g.g}^{-1}$; em comparação, o cádmio, que não tem função biológica, e gera cerca de $30 \mu\text{g.g}^{-1}$.

A bioacumulação pode se dar em diferentes partes do organismo, sendo as principais o bisco, as glândulas, os tecidos, e as conchas. A principal interface de incorporação dos metais em bivalves são as brânquias, que se encontram em contato direto com o meio. Após serem incorporados, os metais são ligados à metalotioneína, adentram em lisossomos e são liberados para a hemolinfa e os hemócitos circulantes (MARIGOMEZ et al., 2002).

Apesar de que as formas de captação, assimilação e eliminação dos metais se deem de modos particulares caso a caso, é possível se definir um padrão. Íons metálicos dissolvidos ou em forma de partículas entram pela cavidade palial por meio dos epitélios das brânquias, paredes do manto, estômago, alvéolo digestivo. Na Tabela 2 a seguir é apresentada uma compilação de diversos estudos sobre os locais de maiores concentrações de metais pesados nos organismos.

Tabela 2 - Locais de Concentração de Metais Pesados em Bivalves

Metal	Método	Célula/Tecido	Espécie	Referência
Zn	ARG	Células Digestivas	<i>Arion rufus</i>	Schoetli and Seiler (1970)
Fe	Perl's reaction	Glândula Digestiva	<i>Mytilus edulis</i>	Lowe and Moore (1979)
		Rim		
		Manto		
		Brânquias (Células Frontais)		Coulon et al. (1987)
		Hemócitos		
		Células Digestivas	<i>Abra alba</i>	Martoja et al. (1988a)
		Células da Parede do Estômago		
		Nefrócitos		
Cd	BTAN-ASSG	Hemócitos	<i>Littorina littorea</i>	Marigómez et al. (1990a)
		Células Digestivas		
Cu	Rubeanic Acid	Células Digestivas	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	
			<i>Mytilus edulis</i>	
			<i>Cyclope neritea</i>	
Zn	Dithizone	Glândula Digestiva	<i>Mytilus edulis</i>	Lowe and Moore (1979)
		Rim		
		Manto		
		Células Digestivas	<i>Arion rufus</i>	Schoetli and Seiler (1970)
		Células Digestivas	<i>Arion ater</i>	Recio et al. (1988)
		Células Basofílicas		
		Células Excretoras		
Cd	Timm's method	Brânquias (Células Epiteliais)	<i>Anodonta anatina</i>	Hemelraad and Herwig (1998)
		Rim (Células Epiteliais)	<i>Anodonta cygnea</i>	
		Glândula do Intestino Médio		
Cd,Cu,Pb	AMG Combinado	Brânquias (Células Epiteliais)	<i>Littorina littorea</i>	Soto et al. (1996a,1998a)

	com Análises de Imagens Quantitativas	Hemócitos Poro/Células Marrons Células Digestivas Células Estomacais Nefrócitos	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Soto et al. (1996a)
Cd	SIMS/CAMECA	Células Digestivas Nefrócitos	<i>Mercenaria stimpsoni</i> <i>Peronidia Venulosa</i> <i>Mizuhopecten yessoensis</i> <i>Mytilus edulis</i>	Skul'sky et al. (1989)
Cr	SIMS/CAMECA	Brânquias Hemócitos Células Digestivas Nefrócitos Fibras Musculares	<i>Mytilus edulis</i>	Chassard-Bouchaud and Galle (1998)
Cr, Fe	SIMS/CAMECA	Brânquias (Células Frontais) Amebócitos Nefrócitos Células Digestivas	<i>Mytilus edulis</i>	Coulon et al. (1987)

Adaptado de Marigómez et al. (2002)

3.2.4. Concentrações de Metais Pesados em Mexilhões *Perna perna*

Diversos estudos em âmbito mundial (KENNISH, 1997; BOALCH, et al., 1981; DE GREGORI et al., 1995; SUKASEM AND TABUCANON, 1993; HARDIMAN AND PEARSON, 1995) vêm utilizando mexilhões como biomarcadores de poluição por metais pesados, sendo o principal deles o “U.S. Mussel Watch”, proposto por GOLDBERG em 1975 conforme citado.

No Brasil verificou-se a existência de estudos principalmente nas regiões sul e sudeste (CARVALHO & LACERDA 1986; FRANCONI et al., 2004; AVELAR et al., 2000; KEHRIG et al., 2007). Tais estudos são importantes fontes de referência para a comparação das concentrações encontradas no presente estudo. A Tabela 13 resume os resultados encontrados em diferentes regiões brasileiras. Nota-se que apesar da proximidade geográfica com o Rio de Janeiro, apenas um estudo foi localizado na costa de Macaé, na Ilha de Santana. O presente estudo optou por repetir o mesmo ponto de coleta de Carvalho et al. (2001), objetivando estimar a evolução dos contaminantes no local.

3.3. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) são compostos por átomos de carbono e hidrogênio, com elevada razão C/H, dispostos em forma de dois ou mais anéis benzênicos fundidos em arranjos lineares, angulares ou agrupados, podendo apresentar substituições em um ou mais anéis.

3.3.1. Origens dos Hidrocarbonetos Policíclico Aromáticos (HPAs)

Os HPAs existentes no ambiente marinho podem ser formados por uma variedade de mecanismos (NEFF, 1979):

- Pirolíticos: Combustão incompleta a altas temperaturas (700°C), ou pirólise de materiais orgânicos;
- Petrogênicos: Rearranjo e transformação de materiais orgânicos a temperaturas moderadas de 100°C a 300°C, formando combustíveis fósseis;

- Diagênicos: Transformação de certas classes de compostos orgânicos em solos e sedimentos;
- Biogênicos: Biossintetizados diretamente por organismos.

3.3.2. Propriedades Físico-Químicas dos HPAs

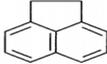
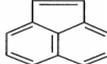
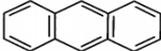
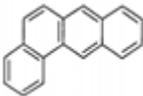
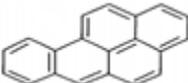
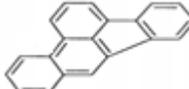
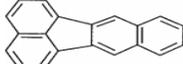
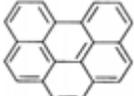
As propriedades físico-químicas dos HPAs são variáveis em relação às características individuais de cada composto, conforme pode ser verificado na Tabela 3. No entanto, pode-se observar também algumas semelhanças, a exemplo da solubilidade, baixa em quase todos os compostos, com exceção ao naftaleno e seus compostos alquilados.

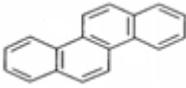
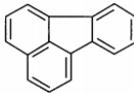
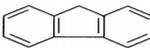
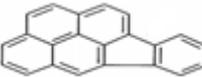
Os HPAs apresentam de 2 a 6 anéis aromáticos fundidos entre si com peso molecular (PM) variando entre 128 e 278 g/mol. Suas características físico-químicas, como solubilidade (S) e pressão de vapor (PV) são fatores importantes que direcionam a distribuição desses contaminantes entre as fases solúvel e particulada em meio atmosférico, aquoso e biótico. A solubilidade em água dos HPAs varia entre os altamente insolúveis (benzo[g,h,i]perileno: $2,6 \times 10^{-6}$ mg/L), pouco solúveis em água (acenaftileno, 3,93 mg/L) e com relativa alta solubilidade (naftaleno, 31,7 mg/L); enquanto a pressão de vapor transita entre compostos altamente voláteis (naftaleno) e compostos relativamente pouco voláteis (dibenzo[a,h]antraceno).

O peso molecular tem relação inversa com a solubilidade, que diminui com o aumento do número de anéis. Compostos com maiores números de anéis benzênicos são mais resistentes à degradação e à solubilidade. Conseqüentemente compostos mais leves são mais rapidamente degradados e dotados de ampla dispersão ambiental.

É interessante destacar ainda o coeficiente de partição octanol/água ($\text{Log } K_{ow}$), que influencia diretamente no comportamento dos HPAs no meio ambiente e na incorporação pelos organismos. Este parâmetro relaciona a afinidade de determinada molécula com a água e tecidos lipídicos. Quando este coeficiente for maior que 4 (quatro), indicará grande afinidade com compartimentos lipídicos. Nota-se que, todos os HPAs analisados na Tabela 3 apresentam $\text{Log } K_{ow}$ superior a 4; com exceção ao naftaleno e acenafteno, com valores muito próximos (3,4 e 3,98 respectivamente), o que os classifica como moderadamente a altamente lipossolúveis.

Tabela 3 - Propriedades Físico-Químicas dos 16 HPAs Prioritários

HPA	Acenafteno	Acenaftileno	Antraceno	Benzo(a) Antraceno	Benzo(a)Pireno	Benzo(b) Fluoranteno	Benzo(k) Fluoranteno	Benzo(g,h,i) perileno
Fórmula	C ₁₂ H ₁₀	C ₁₂ H ₈	C ₁₄ H ₁₀	C ₁₈ H ₁₂	C ₂₀ H ₁₂	C ₂₀ H ₁₂	C ₂₀ H ₁₂	C ₂₂ H ₁₂
Estrutura								
Massa Molecular	154,21	152,2	178,2	228,29	252,3	252,3	252,3	276,34
P. de Fusão (oC)	95	92-93	218	158	179	168,3	215,7	273
P. de Ebulição (oC)	96,2	265-275	340	400	300	-	480	550
Solub. Água (mg/L)	1,93	3,93	0,08	0,01	2,3x10 ⁻³	1,2x10 ⁻³	7,6x10 ⁻⁴	2,6x10 ⁻⁶
Coef. de Partição octanol/água (Log KoW)	3,98	4,07	4,45	5,61	6,06	6,04	6,06	6,5
Coef. de Partição Corg/água (Log KoC)	3,66	1,4	4,15	5,3	6,74	5,74	5,74	6,2
Pressão de Vapor (mmHg)	4,47x10 ⁻³	0,03	1	2,20x10 ⁻⁸	5,60x10 ⁻⁹	5,00x10 ⁻⁷	9,59x10 ⁻¹¹	1,03x10 ⁻¹⁰

HPA	Naftaleno	Criseno	Dibenzo(a,h) Antraceno	Fluoranteno	Fluoreno	Ideno(1,2,3 - c,d)pireno	Fenantreno	Pireno
Fórmula	C10H8	C18H12	C22H14	C16H10	C13H10	C16H10	C14H10	C16H10
Estrutura								
Massa Molecular	128,2	228,3	278,35	202,26	166,2	276,3	178,2	202,3
P. de Fusão (oC)	81	255	262	11	116	163,6	100	156
P. de Ebulição (oC)	218	448	-	375	295	530	340	393
Solub. Água (mg/L)	31,7	2,8x10 ⁻³	5x10 ⁻⁴	0,20-0,26	1,68-1,98	0,06	1,2	0,77
Coef. de Partição octanol/ água (Log K_{ow})	3,4	5,16	6,84	4,9	4,18	6,58	4,45	4,88
Coef. de Partição Corg/ água (Log K_{oc})	-	5,3	6,52	4,58	3,86	6,2	4,15	4,58
Pressão de Vapor (mmHg)	10,4	6,30x10 ⁻⁷	1,00x10 ⁻¹⁰	5,00x10 ⁻⁶	3,2x10 ⁻⁴	10 ⁻¹¹ - 10 ⁻⁶	6,8x10 ⁻⁴	2,5x10 ⁻⁶

Continuação...

Fonte: Adaptado de ATSDR (1995).

3.3.3. Fontes dos HPAs e Comportamento no Ambiente Marinho

Diversas são as fontes que aportam hidrocarbonetos ao oceano e zonas costeiras, e sua identificação é dificultada pela alta variedade destes compostos e pelos processos de alterações químicas e microbiológicas que ocorrem quando já se encontram no ambiente marinho. Basicamente podem ser divididas em fontes naturais e antropogênicas.

3.3.3.1. Fontes Naturais

As fontes naturais no ambiente marinho podem ser oriundas de HPAs pirolíticos (queimadas naturais), petrogênicos (vazamento de fendas), diagênicos (transformações microbianas) e biogênicos (sínteses biogênicas). A predominância de HPAs individuais como naftaleno, fenantreno e perileno, é considerada indicador da síntese natural de HPAs em regiões tropicais (WILCKE et al., 2000, KRAUSS et al., 2005).

3.3.3.2. Fontes Antropogênicas

As fontes antropogênicas podem originar HPAs pirolíticos e petrogênicos. As principais contribuições para a entrada de HPAs no ambiente são: (1) Produção de petróleo: vazamentos, água de produção, lama e cascalho decorrentes da perfuração, refino, estocagem, transporte; (2) Incineração de resíduos domésticos e industriais; (3) Queima de combustíveis fósseis em automóveis e indústrias; (4) Lavagem de tanques de navios; (5) Queimadas de Florestas; (6) Efluentes domésticos e industriais; (7) Produção de carvão. Os HPAs gerados em meio terrestre poderão atingir o ambiente marinho via deposição atmosférica ou drenagem fluvial.

HPAs pirolíticos são os mais presentes no ambiente. São formados pela queima incompleta de matéria orgânica sob condições de elevada temperatura, baixa pressão e curto tempo de formação, que ocorre em processos industriais e na combustão de combustíveis fósseis por automóveis. Acredita-se que são formados pela quebra de matéria orgânica em moléculas menores, rearranjando-as em componentes não alquilados (NEFF, 1979, MEYER & ISHIWATARI, 1993).

HPAs petrogênicos entram no ambiente marinho por vazamentos de fendas naturais, erosão de carvão, turfa e xisto betuminoso, derramamentos de óleo e carvão, descargas de águas de lastro e de porão não tratadas de navios petroleiros e outros navios, efluentes de refinarias de óleo, separadores de água e óleo em plataformas de produção, centrais termoelétricas a carvão, e estações de tratamento de esgotos municipais. Sua condição de formação de baixas temperaturas e longo período de tempo favorece a formação de HPAs alquilados (NEFF, 1979; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1985).

3.3.4. Identificação da Proveniência de HPAs

Entre os HPAs, os 16 compostos prioritários definidos pela USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos), e seus homólogos alquilados, são os mais indicados para o diagnóstico das origens de contaminação por hidrocarbonetos. Os compostos alquilados estão presentes em elevadas concentrações nos óleos crus, enquanto quase ausentes naqueles derivados de combustão (BOEHM et al., 1997; SAUER et al., 1993).

Ao se analisar as concentrações de hidrocarbonetos é possível inferir, através de uma série de análises, a assinatura de determinado tipo de contaminação, com o objetivo de definir suas possíveis fontes. Abaixo algumas relações encontradas na literatura (DOUGLAS et al., 1996; MAGI et al., 2002; PAGE et al., 1996; WANG et al., 1999), selecionadas para análise no presente estudo:

- i. HPAs petrogênicos são constituídos predominantemente por 2 e 3 anéis aromáticos (naftaleno, fluoreno e fenantreno), enquanto HPAs originários de queima apresentam uma maior frequência relativa para compostos com 4 a 6 anéis (fluoranteno, pireno, benzo(b,k)fluorantenos e benzo(g,h,i)perileno);
- ii. Benzo-a-pireno, marcador molecular de combustão, tendo em vista sua alta formação em combustões incompletas, e baixa concentração no petróleo;
- iii. Razão entre as concentrações de C1-fenantreno e fenantreno não substituído (C1Fen/Fen) maior que 2 indica fontes petrogênicas; enquanto menor que 2, pirolíticas;

- iv. Razão entre as concentrações de fluoranteno e pireno (FRT/PIR) maior que um, sugere predomínio de fonte pirolítica; se menor que um, petrogênica;
- v. Razão entre o somatório (acenaftileno, acenafteno, fluoranteno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, Indeno (1,2,3-cd) pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno) e o somatório dos 5 HPAs alquilados - naftaleno, fenantreno, fluoreno, pireno, criseno, dibenzitiofeno – e seus homólogos; indicará fonte petrogênica para valores inferiores a 0,05, e pirolíticas para acima de 0,80;
- vi. Razão entre as concentrações de benzo(a)antraceno e criseno (BaANT/CRIS) menor ou igual a 0,4, sugere fontes petrogênicas; se maior que 0,9, pirolíticas.

3.3.5. Hidrocarbonetos no Oceano

Uma vez no ambiente o óleo está susceptível à ação de intempéries, que causará mudanças consideráveis em suas propriedades físicas e químicas. A taxa de alteração é diferente para cada tipo de óleo e depende das condições ambientais e atividades microbiológicas às quais o mesmo é submetido. Nos primeiros dias a alteração é causada basicamente pela evaporação, e a perda pode ser maior que 70% em volume para óleos leves, 40% para óleos médios, e de 5 a 10% para óleos pesados ou residuais (FINGAS, 1995).

A susceptibilidade dos compostos aromáticos está relacionada ao número de anéis em suas estruturas. Quanto menor o número de anéis benzênicos, mais rapidamente serão degradados. O grau de alquilação também influencia, desfavorecendo a degradação (HERBES & SHAW, 1978). Em ecossistemas aquáticos os HPAs podem ser degradados pelo processo de fotooxidação química na camada de água superficial e pela atividade microbiológica no sedimento e no material particulado.

3.3.6. Propriedades Tóxicas dos HPAs

Os HPAs possuem alta toxicidade mesmo em doses muito reduzidas (TANIGUCHI et al., 2008. In RESGALLA et al 2008). São considerados poluentes orgânicos prioritários em estudos ambientais, alguns desses contaminantes são descritos como precursores de

ações mutagênicas e tumorais em sistemas biológicos; apresentam relativa persistência no meio ambiente, baixa biodegradabilidade e alta lipofilicidade (WHO 1983).

Fator importante em relação aos HPAs é a toxicidade relacionada a cada elemento, uma vez que tais contaminantes poderão atingir a biota local e, conseqüentemente, a população consumidora. Propriedade agravante é a bioacumulação, que está diretamente relacionada à capacidade de solubilizar em gordura (lipossolubilidade), conforme citado no item 3.3.2 e especificado na Tabela 3 pelo coeficiente LogK_{ow} .

Os elementos benzo(a)pireno, o benzo(b)fluoranteno, benzo(a)antraceno, indeno(1,2,3-c,d)pireno e dibenzo(a,h)antraceno são apontados como HPAs carcinogênicos em testes com animais de laboratório (WHO, 1983). O Benzo(a)pireno é altamente carcinogênico, enquanto seu isômero benzo(e)pireno, não é carcinogênico (HECHT et al., 1976. In: FREUDENTHAL & JONES). A Tabela 4 a seguir apresenta uma compilação de vários estudos a respeito da mutagenicidade e carcinogenicidade dos HPAs.

Tabela 4 - Mutagenicidade e Carcinogenicidade de HPAs

Compostos	Mutagenicidade	Carcinogenicidade
Antraceno	-	-
Benzo(a)antraceno	+	+
Benzo(a)pireno	+	+
Benzo(b)fluoranteno	+	+
Benzo(c)fenantreno	(+)	(+)
Benzo(e)pireno	+	(-)
Benzo(g,h,i)perileno	+	-
Criseno	+	+
Fluoranteno	+	+
Ideno(1,2,3-cd)pireno	+	+
Naftaleno	-	(?)
Perileno	+	(-)

Legenda: + positivo; - negativo; () baixo grau de certeza; ? Incerteza. Fonte: (WHO, 1983).

HPAs de baixo peso molecular como naftaleno, fenantreno e antraceno não são carcinogênicos, assim como a maioria dos HPAs encontrados em óleos crus e refinados. No entanto, alguns destilados e óleos combustíveis residuais contém alta concentração de HPAs de alto peso molecular, derivados de processos catalíticos na atividade de refino, que podem ser carcinogênicos ou mutagênicos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2003).

Um fator preocupante em estudos ambientais é a influência que os HPAs poderão ter nos organismos marcadores de poluição. A Tabela 5 demonstra as concentrações de baixo e médio efeitos de HPAs encontradas em bivalves.

Tabela 5 - Concentrações de Baixo Efeito (CBE) e de Médio Efeito (CME)

Composto	CBE	CME
Naftaleno	0,16	2,10
2-Metilnaftaleno	0,07	0,67
Acenafteno	0,02	0,50
Acenaftileno	0,04	0,64
Fluoreno	0,02	0,54
Antraceno	0,09	1,10
Fenantreno	0,24	1,50
Fluoranteno	0,60	5,10
Pireno	0,67	2,60
Benzo(a)antraceno	0,26	1,60
Dibenzo(a,h)antraceno	0,43	1,60
Criseno	0,06	0,26
Total Low MW PAHs	0,55	3,16
Total High MW PAHs	1,70	9,60
Total PAHs	4,02	44,79

Concentrações em $\mu\text{g/g}$ em peso seco. Fonte: (NEFF, 1979)

O método de qualificação em CBE e CME não pode distinguir a origem dos HPAs, sendo aplicado com a função de qualificar o potencial tóxico de tal distribuição. Concentrações inferiores a CBE indicaria ausência de efeito tóxico; superiores a CME indicaria toxicidade potencial aos organismos; enquanto concentrações entre CBE e CME não poderiam categorizar a toxicidade com precisão (NEFF, 1979).

4. ÁREA DE ESTUDO

Para análise da qualidade ambiental da região costeira de Macaé foram definidos quatro pontos de coleta dos mexilhões *Perna perna* encontrados naturalmente no meio ambiente. Tais pontos, abaixo caracterizados, possuem diferentes características naturais e em relação às pressões antrópicas da região, e buscam retratar os ambientes nos quais estão inseridos.

4.1. Estuário Rio Macaé

A bacia hidrográfica do Rio Macaé pertence à Região Hidrográfica VIII do Estado do Rio de Janeiro, de acordo com a Resolução n. 18 do Conselho Estadual de Recursos Hídricos de 2006. Estende-se ao longo da Região Serrana e Norte Fluminense, abrangendo 1.765 Km² e um total de seis municípios: Macaé, Nova Friburgo, Casimiro de Abreu, Rio das Ostras, Conceição de Macabu e Carapebus; embora a grande maioria de sua área esteja localizada dentro dos limites do município de Macaé (82%). O rio nasce a uma altitude máxima de 1.560 m, percorre uma planície aluvial e deságua no oceano atlântico, através de seu estuário localizado na área central de Macaé (PINHEIRO et al. 2008). A bacia abrange diferentes usos do solo, dividida em fragmentos florestais (41%), pastos (34%), áreas agrícolas (19%), urbanização (3%), e outros (3%) com várias tipologias, como manguezais, cursos d'água, solos expostos, áreas inundáveis (IBGE, 2012).

A contaminação do Rio Macaé foi abordada em estudo recente por Molisani et al. (2012), que demonstrou a grande contribuição das fontes antrópicas, como pecuária, escoamento superficial, águas servidas e disposição indevida de resíduos sólidos na emissão de elementos químicos para este curso d'água. Em valores percentuais, foi estimado que as emissões antrópicas cheguem a 62% do Zinco, 65% do Cobre, 60% do Cádmio e 55% do Chumbo que atingem o curso d'água.

O ponto denominado Estuário Macaé (EM) está situado no estuário do curso d'água homônimo nas coordenadas latitude 22°22'26,4'' S e longitude 41°46'21,9'' W, onde

existem pequenas rochas, já na parte predominantemente marítima, com presença de mexilhões *Perna perna*, conforme Figura 4.



Figura 4 - Localização do Ponto Estuário Macaé (EM)

Fonte: Google Earth, 2013

Além da chegada das águas do Rio Macaé, nas proximidades do ponto EM há também o Iate Clube, que movimentava grande quantidade de embarcações. Sendo assim, este ponto se torna um ambiente único, que sofre com consideráveis impactos antrópicos, razão pela qual foi escolhido como referência ao presente estudo.

Em estudo recente realizado por Costa (2010) mediu-se as concentrações de HPAs na água (0,02 - 0,12 $\mu\text{g/L}$) e nos sedimentos (nd - 0,09 mg/Kg) do estuário do rio Macaé, que apresentaram-se típicas de áreas não contaminadas. No entanto, quando comparados com estudo realizado no mesmo local por Taniguchi (2001), pode-se observar um aumento da concentração de HPAs (0,03 - 0,09 mg/kg), além da presença de HPAs cancerígenos, como o benzo-a-pireno. Não foram encontrados estudos de HPAs em tecidos de biota no estuário do rio Macaé.

4.2. Praia Campista

O ponto denominado Praia Campista (PC) está situado nas coordenadas latitude $22^{\circ}23'25,17''$ S e longitude $41^{\circ}46'04,31''$ W, em um costão rochoso a

aproximadamente 1 km do Porto de Imbetiba e na área central da cidade de Macaé, conforme Figura 5.



Figura 5 - Localização do Ponto Praia Campista (PC)

Fonte: Google Earth, 2013

O Porto de Imbetiba iniciou suas operações no ano de 1979, com o objetivo de atender às necessidades das plataformas de petróleo da bacia de Campos. É o maior porto operado pela Petrobrás no Brasil em volume de cargas. Possui três píeres de 90 m de comprimento e 15 m de largura, totalizando seis berços. Realiza aproximadamente 460 atracções por mês, movimentando, em números médios, 34.000 t de carga geral para embarque e 22.000 t para desembarque. A estocagem de óleo diesel chega a 4.620 m³, mensalmente são transferidos 7.800 t para as embarcações (UOBC, 2012).

A implantação do Porto de Imbetiba no Município de Macaé contribuiu para a instalação da Petrobrás no município e várias outras empresas, gerando grande número de empregos e crescimento populacional. Paralelamente com o enorme tráfego de embarcações e a proximidade da foz do Rio Macaé, conforme item 4.1, grandes impactos às comunidades marinhas e à qualidade da água pode estar sendo gerados.

4.3. Arquipélago de Santana

Para a coleta e análise de mexilhões foi definido um ponto no Arquipélago, denominado Ilha de Santana (IS), localizado nas coordenadas latitude 22° 24' 20,12''S e longitude 41° 42' 07,6'' W, conforme Figura 6.



Figura 6 – Localização do Ponto Ilha de Santana (IS)

Fonte: Google Earth, 2013

O Parque Municipal do Arquipélago de Santana, sancionado pela Lei N° 1.216/89, compreende as Ilhas de Santana (1,29 Km²), do Francês (350 m²), Ponta das Cavalas, Ilhote do Sul (120 m²) e demais rochedos e lajes que constituem o arquipélago. O Parque tem por finalidade proteger os ecossistemas nele existente, a flora, a fauna e os sítios arqueológicos. Ao redor do mesmo está compreendida a Área de Proteção Ambiental Municipal do Arquipélago de Santana, em um raio de 16 km a partir do ponto relativo às coordenadas latitude 22° 24' 33,4''S e longitude 41° 42' 07,7'' W. O Arquipélago está a aproximadamente 8 km da costa de Macaé, onde estão situados o Porto de Imbetiba e o Estuário do Rio Macaé.

A maior ilha do arquipélago, de Santana, é a única que possui alguma infraestrutura instalada: uma base de gerenciamento de faróis da marinha, um gerador de eletricidade, e algumas casas onde residem temporariamente prestadores de serviço ao farol. Além desta ocupação, outras atividades e infraestrutura podem estar afetando a qualidade da

água e as comunidades do arquipélago, como a proximidade a um tráfego intenso de embarcações, e a existência de oleodutos próximos às ilhas.

4.4. Pedras Imboassica

A Lagoa de Imboassica possui uma área total de 3,26 Km², tem como principal afluente o rio Imboassica, que recebe cerca de $2,00 \times 10^3$ m³/dia de efluentes sanitários, todo ele encaminhado diretamente para a lagoa (MAROTTA et al., 2010). Além do lançamento de efluentes domésticos, sofre também com a abertura artificial da barra de areia (BRANCO et al., 1998). Tais impactos podem causar mudanças drásticas na composição de comunidades e na qualidade da água.

O ponto de estudo, denominado Pedrinhas Imboassica (PI), foi assim denominado pois está situado em um bloco de pedras que contém mexilhões *Perna perna*, situado no mar, na direção onde deságua o canal extravasor da lagoa, conforme Figura 7.



Figura 7 - Localização do Ponto Pedras Imboassica (PI)

Fonte: Google Earth, 2013

Este ponto está situado nas coordenadas latitude 22°25'32,09'' S e longitude 41°49'44,33'' W. É importante observar que no dia da coleta havia pescadores extraíndo os mesmos mexilhões para venda no mercado em Macaé.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Amostragem e Preparação das Amostras

Foram realizadas duas coletas dos Mexilhões *Perna perna*, a primeira em Março e a segunda em Outubro de 2013. Em cada ponto de coleta foram analisadas amostras em triplicata de 15 indivíduos, totalizando 45 em cada ponto. Os tamanhos variaram de acordo com os locais de coleta, que apresentaram grande variabilidade entre si (45-55 cm EM; 55-65 cm PC; 65-75 cm IS e PI).

Os tecidos dos animais foram congelados (-20 °C), liofilizados (Labconco FreeZone 4.5L) por 48 horas. Após tal etapa foram homogeneizadas utilizando-se um mortar.

5.2. Teor de Umidade

Para a medição do teor de umidade foram utilizados 8 indivíduos *Perna perna*. Efetuou-se drenagem inicial de 5 minutos, mantendo as conchas já abertas em posição vertical, de forma a escorrer toda a água retida na parte interna. Os tecidos foram então removidos da concha e pesados individualmente. Em seguida foram levados para estufa, a 103°C por 24 horas. Após este período o material permaneceu na estufa, realizando-se pesagens de uma em uma hora até que atingisse peso constante, o que indicou ausência de humidade. A partir da primeira e última pesagem definiu-se o teor de umidade médio, de 80%. Tal índice é utilizado para se estimar as concentrações de contaminantes em peso seco (ng.g^{-1}).

5.3. Análise de Hidrocarbonetos Policíclico Aromáticos

Reagentes e Soluções

Diclorometano HPLC Mallinckrodt

Acetona Mallinckrodt

Hexano Mallinckrodt 95%

Ciclohexano Vetec

Padrão Interno de F2

Padrão sub-rogado (p-terfenil-d₁₄) 2ng μL^{-1}

Alumina 2% desativada

Sílica 5% desativada

Sulfato de Sódio

HNO₃ Merck 65%

Descontaminação dos materiais

Toda a vidraria utilizada neste procedimento foi lavada com sabão Detertec 10%, água da torneira e sucessivas rinsagens com água deionizada e descontaminada em mufla por 6 horas a 450 °C ou com solventes acetona e cloreto de metileno.

Os cartuchos de papel filtro, bem como o algodão, foram previamente descontaminados, no próprio soxhlet, através de refluxo contínuo (período de 6 horas) com solvente diclorometano (volume aproximado de 200 mL).

Embasamento teórico

Alumina desativada 2%: alumina descontaminada em mufla a 450°C por 6 horas; Resfriada em dessecador. Após, adição de 2 ml de água deionizada, com agitação constantemente até homogeneização. Mantida em repouso por 12 horas antes da utilização.

Liofilização: processo de desidratação realizado a frio e a vácuo, em amostras previamente congeladas.

Padrão sub-rogado: compostos orgânicos de composição química similar aos analitos de interesse, mas normalmente não são encontrados em amostras ambientais. São adicionados nas amostras, brancos e padrões, antes das análises e são utilizados na avaliação do efeito de matriz e recuperação dos analitos, para avaliar o percentual de recuperação do processo analítico.

Sílica desativada 5%: Descontaminação no soxhlet com diclorometano por 6 horas. Secagem inicial em capela e posteriormente em estufa a 170°C por 2 horas. Resfriamento no dessecador até atingir temperatura ambiente. Adição de 5% de água, mistura e descanso por 12 horas.

5.3.1. Extração

O procedimento descrito é baseado no método EPA 3540c e adaptado para as condições específicas do LABMAM. Nas análises foram incluídos também um material de referencia Nist 2977, controle branco analítico, controle de recuperação do padrão sub-rogado.

Esta etapa tem como objetivo a extração dos HPAs dos tecidos dos mexilhões. Pesou-se em balança analítica, exatamente ao décimo do miligrama cerca de 3 gramas da amostra seca liofilizada e homogeneizada. As alíquotas foram envolvidas em cartuchos de celulose e grampeadas com grampos previamente descontaminados em acetona, diclorometano e mufla por 6 horas a 450°C.

Os envelopes contendo as amostras foram adicionados aos conjuntos Soxhlet – balões de extração (250ml), adicionando-se 50 µl do padrão sub-rogado F2 e 200 ml da mistura de solventes acetona-diclorometano 1:1. Em seguida foram locados nas mantas aquecedoras, ali permanecendo por 24 horas sob refluxo constante do solvente.

Os balões de extração contendo extratos com analitos de interesse foram inseridos no roto evaporador para a evaporação, em uma temperatura de aproximadamente 37,5°C, até que restasse em torno de 2 ml. O concentrado foi então transferido para uma proveta e avolumado a 10 ml. Destes, 8 ml seguiram para a etapa da coluna de alumina e 2ml para a quantificação de lipídeos.

5.3.2. Teor de Lipídeos

A alíquota foi pesada com precisão ao décimo do miligrama em vidro-relógio previamente descontaminado e tarado, e levada à estufa até atingir peso constante, indicando secagem total. Foi utilizada balança de precisão. O teor de lipídeos foi definido através de método gravimétrico.

5.3.3. Purificação dos Extratos

Coluna de Alumina

Esta etapa tem como objetivo diminuir o teor de lipídeos nas amostras. Foram utilizadas colunas de vidro com 2,2 cm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento. Inicialmente foram preenchidas com 1/3 de diclorometano, e em seguida 20 gramas de Alumina 2% desativada. O diclorometano foi então drenado, e adicionado 50ml de hexano.

O extrato da amostra foi então colocado no topo da coluna, posteriormente eluída com cloreto de metileno (100ml) e recolhida em balão de vidro de 250ml a uma vazão de aproximadamente 1 gota/segundo.

Após o recolhimento as amostras foram concentradas e aferidas a 1 ml no TurboVap® a uma temperatura de 35 °C; utilizando-se diclorometano para rinsar.

GPC - Cromatografia por Permeação em Gel

O GPC, ou Cromatografia por Permeação em Gel tem por objetivo reduzir o teor de lipídeos das amostras. O gel apresenta porosidade variável e sítios ativos que promovem a distribuição das moléculas entre a fase estacionária e a fase móvel. Este processo ocorre devido a interações físico-químicas e de peso molecular. As moléculas com tamanho superior ao diâmetro dos poros do gel são primeiramente excluídas por apresentarem menor envolvimento com o mesmo, enquanto que moléculas de tamanho inferior são retidas permanecendo por período maior em contato com a superfície do gel.

Para tal foi utilizado um equipamento Shimadzu LC10 (coluna Shodex CLNpak EV2000).

Antes de se injetar a amostra trocou-se o solvente diclorometano por acetona/ciclohexano 3:7 e realizou-se filtração das amostras.

5.3.4. Fracionamento

Coluna de Alumina/Sílica

Esta etapa tem como objetivo o fracionamento dos hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos da amostra. As colunas são de vidro e possuem 1,3 cm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento. Inicialmente foram preenchidas com 1/3 de diclorometano, em seguida 7 gramas de Alumina neutra 2% desativada, 10 gramas de sílica neutra 5% desativada, e 1 grama de sulfato de sódio descontaminado. O diclorometano foi então drenado, e adicionado 20ml de hexano, imediatamente drenado.

O extrato da amostra foi então colocado cuidadosamente no topo da coluna, posteriormente eluída com hexano 95% (35ml) e recolhida em balão de vidro de 250ml. Esta etapa é conhecida como extração de F1, que são os compostos alifáticos, descartados por não ser objeto do estudo.

Em seguida foi inserido 75 ml da solução diclorometano/hexano, responsável pela extração dos hidrocarbonetos aromáticos. Após o recolhimento as amostras foram concentradas a 1 ml no turbo vap a uma temperatura de 35 °C.

5.3.5. Quantificação dos HPAs

A metodologia selecionada para identificação e quantificação dos HPAs foi a cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GCMS - Gas Chromatography-Mass Spectrometry), seguindo o protocolo baseado no método EPA 8270D. Antes da injeção do concentrado no GCMS foram acrescentados 2,5 µl do padrão sub-rogado p-terfenil-d₁₄, com a função de verificar possíveis perdas no equipamento.

Os equipamentos utilizados assim como as condições estabelecidas estão demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6 - Equipamentos e Condições para análise de HPAs

Equipamento	EM- Finningan modelo Polaris Q
	GC- Finningan modelo Trace GC

Coluna	J&W DB-5ms (30m x 0,25mm x 0,25µm de filme)
Gás de Arraste	Hélio 1,2 ml/min
Programa de Temperatura	50°C por 5 minutos
	5°C/min até 80°C
	6°C/min até 280°C
	280°C durante 25 minutos
Volume de injeção da amostra	2µl

Foram analisados os 16 HPAs prioritários pela Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA): Acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(ghi)perileno, benzo(k)fluoranteno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, fenantreno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno e pireno; mais o perileno, benzo(e)pireno, dibenzotiofeno e seus alquilados homólogos(C1-C3), além dos compostos alquilados do naftaleno(1-metil e 2-metilnaftaleno, C2-C4), fluoreno(C1-C3), fenantreno(C1-C4), pireno(C1 e C2), e criseno(C1 e C2).

Para este método foram definidos limite de detecção e limite de quantificação conforme ANEXO A. Esses limites representam a concentração abaixo da qual não é possível identificar a presença do elemento e quantificar sua concentração, respectivamente.

5.4. Análise de Metais Pesados

Toda a vidraria utilizada neste procedimento foi lavada com sabão Detertec 10%, água da torneira e sucessivas rinsagens com água deionizada seguida de banho por 48 horas em HNO₃ 20%.

Para a definição do procedimento de abertura e da massa de amostra necessária, foram testadas diferentes alíquotas, mostrando-se a massa de cerca de 0,55g suficiente para o procedimento adotado.

5.4.1. Abertura da Amostra

A abertura ácida das amostras foi realizada em equipamento de microondas adicionando-se 7 ml de HNO₃ (65%), seguindo o seguinte programa de biodigestão:

- Step1: 15 min – 150 W;
- Step 2: 5 min – 600 W;
- Step 3: 10 min – 700 W;
- Step 4: 15 min – 0 W.

5.4.2. Quantificação dos Metais Pesados

A determinação dos elementos-traço foi feita por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), em equipamento Agilent, modelo 7500ce, com Octapole Reaction System (ORS), equipado com um nebulizador Micromist de baixa vazão conectado a uma câmara de nebulização Scot de quartzo, colocada dentro de um bloco Peltier para manter a câmara refrigerada a 2°C, e tocha de quartzo com injetor de 2,5 mm de diâmetro. Os cones "sampler" e "skimmer" utilizados foram de Níquel. O padrão interno utilizado foi Ródio. A determinação de Fe 56 foi feita utilizando o sistema de eliminação de interferência (ORS) com introdução de gás.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Avaliação regional da contaminação por HPAs no litoral de Macaé/RJ usando mexilhões (*Perna perna* Lineaus 1758) como biomarcadores

6.1.1. Teor de Lipídeos

Foram calculados os teores lipídicos das amostras nas duas coletas. Por terem sido realizadas em épocas diferentes, é comum que haja uma variação das concentrações de lipídeos. Estas podem se dar em razão de fator sazonal, onde se espera maiores concentrações lipídicas no verão em relação ao inverno; ou por fator reprodutivo, onde em épocas de desova verifica-se redução do percentual de lipídeos (LOBEL et al., 1989). Tais variações poderão influenciar diretamente o acúmulo de determinados HPAs nos organismos, por se tratarem de elementos lipossolúveis.

Tabela 7 - Teor de Lipídeos dos Mexilhões em Diferentes Pontos e Épocas

Ponto	Teor de Lipídeos %		
	Coleta n.1	Coleta n.2	Média
Estuário Macaé	7,24	6,04	6,64
Ilha de Santana	6,93	5,99	6,46
Praia Campista	8,25	5,5	6,88
Pedrinhas Imboassica	7,36	5,84	6,60
Média	7,45	5,84	-
σ	0,4	0,23	-

Conforme pode ser verificado na Tabela 7, houve variação da concentração de lipídeos da coleta n.1, realizada em março de 2013 e a coleta n.2, em outubro de 2013. No primeiro caso a média foi de 7,45%, enquanto no segundo foi de 5,84%. No entanto, apesar de tal variação não foram constatadas relações significativas com as concentrações de HPAs.

Em comparação a estudos anteriores na região costeira do sudeste brasileiro, as concentrações de lipídeos do presente estudo (5,5 a 8,25%) foram superiores a Yoshimine et al. (2012), em Arraial do Cabo (4,7%), Ubatuba (4,8%), Baía de Guanabara (3,5 a 6,2%); e parcialmente inferiores a Francioni, et al. (2007) em Baía de Guanabara (6 a 13%).

6.1.2. Avaliação da Contaminação por HPAs

Na Tabela 8 encontram-se listadas as concentrações (em ng.g^{-1} peso seco) das amostras das duas Coletas, sendo a n.1 realizada em março de 2013, e a n.2 em outubro de 2013. Foram listadas concentrações dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) individuais, incluindo os alquilados, somatório dos 16 HPAs prioritários de acordo com a USEPA, e o somatório de todos HPAs quantificados (Σ HPA). A recuperação foi satisfatória para todos os pontos, tendo como mínimo IS2, com 66,21%; e máximo PI2 com 94,8%.

O ponto Estuário Macaé foi o que apresentou maior concentração de HPAs, com valores variando de 110,00 a 169,50 ng.g^{-1} para os 16 HPAs prioritários, e de 2.881,25 a 6.019,19 ng.g^{-1} para o somatório dos 38HPAs analisados. Nota-se a baixa representatividade dos HPAs prioritários em relação ao somatório total, contribuindo para uma parcela de 2,82 a 3,82%.

Os pontos Ilha de Santana (IS) e Pedras Imboassica (PI) apresentaram concentrações totais de HPAs baixas a moderadas, com valores médios de 78,97 a 310,57 ng.g^{-1} e 61,26 a 161,92 ng.g^{-1} , respectivamente. No entanto, neste caso o somatório dos 16 HPAs prioritários nos pontos IS (53,00 a 79,2 ng.g^{-1}) e PI (40,21 a 48,51 ng.g^{-1}), apresentaram uma significativa parcela do total, 25,45 a 72,78 % do total no primeiro caso, e 29,96 a 68,00% no segundo.

Já o ponto denominado Praia Campista (PC) apresentou moderada contaminação, com 222,48 a 381,65 ng.g^{-1} na soma total dos 38 HPAs, e de 37,88 a 45,26 ng.g^{-1} se tratando dos 16 HPAs prioritários, o que representou de 11,86 a 16,58 % do total.

Cabe observar que apesar de não haver relação significativa com as concentrações de lipídeos, em todos os pontos houve aumento das concentrações de HPAs na segunda coleta (outubro de 2013) em relação à primeira (março de 2013), seja em relação ao somatório dos 16 HPAs prioritários, ou aos 38 HPAs.

Tabela 8 - Concentração de HPAs (ng g⁻¹, peso seco) nos mexilhões coletas 1 e 2

Ponto Coleta	Ilha de Santana (IS)		Estuário Macaé (EM)		Pedras Imboassica (PI)		Praia Campista (PC)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Recuperação	74,54	66,21	67,22	90,71	81,34	94,88	79,16	74,73
% Lipídeos	6,93	5,99	7,24	6,04	7,36	5,84	8,25	5,51
N	43,38	64,50	<LD	77,44	30,30	17,53	<LD	11,73
C1N	1,58	27,31	1,70	30,74	1,66	8,73	<LD	8,42
C2N	2,25	27,44	2,55	34,94	1,59	6,77	1,52	6,83
C3N	2,68	29,54	25,50	126,26	<LD	9,01	3,60	13,99
C4N	1,23	17,11	72,22	333,35	1,41	6,03	3,48	13,52
ACF	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD
ACE	<LD	<LQ	<LD	<LQ	<LD	<LQ	<LD	<LQ
F	0,86	2,13	2,60	2,85	<LQ	1,21	1,03	0,88
C1F	1,56	5,31	37,84	33,84	1,88	2,51	3,74	2,79
C2F	5,45	13,74	166,24	260,94	4,29	8,57	15,02	15,07
C3F	33,30	29,88	607,84	1081,22	26,45	40,10	56,77	71,33
DBZT	<LD	0,67	4,42	3,60	<LD	<LQ	<LD	0,85
C1DBZT	<LD	2,07	56,94	66,41	<LD	1,42	2,47	5,87
C2DBZT	1,25	4,40	179,75	337,83	<LD	2,69	9,88	21,51
C3DBZT	2,42	6,60	216,17	617,51	<LD	5,49	9,68	34,01
FEN	2,43	5,43	37,99	24,73	2,67	4,53	7,89	7,01
C1FEN	<LD	14,09	175,94	186,72	1,84	7,38	6,55	15,88
C2FEN	<LD	19,50	382,74	752,65	<LD	9,52	23,39	37,29
C3FEN	<LD	15,89	416,93	1026,03	<LD	10,55	19,64	41,26
C4FEN	<LD	10,32	286,38	807,44	<LD	8,07	15,64	33,34
ANT	<LD	<LD	5,53	3,21	<LD	0,83	1,66	<LD
FL	1,66	2,19	10,82	15,63	1,74	3,79	4,43	4,77

PIR	<LD	2,28	11,26	13,44	1,16	2,72	3,29	4,84
C1PIR	<LD	2,25	25,56	49,47	<LD	1,36	3,24	4,35
C2PIR	<LD	2,68	51,84	87,41	<LD	1,42	4,16	6,29
BaANT	4,65	<LD	18,09	3,98	3,57	2,07	3,37	0,88
CRIS	<LD	1,86	16,20	19,68	<LD	2,47	2,36	3,11
C1CRIS	<LD	1,69	19,94	35,31	<LD	<LD	2,68	2,99
C2CRIS	<LD	2,67	13,20	22,89	<LD	<LD	1,36	2,25
BbFL	<LD	0,97	3,66	5,73	<LD	5,74	<LD	3,27
BkFL	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,80	<LD	1,46
BePIR	<LD	<LQ	1,32	6,67	<LD	2,82	<LD	1,34
BaPIR	<LD	2,04	<LD	2,54	<LD	2,40	<LD	10,02
Per	<LD	1,43	27,13	29,98	<LD	2,24	4,17	6,20
I-PIR	<LD	<LD	<LD	2,23	<LD	2,56	<LD	2,22
DBahANT	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,62	<LD	<LD
BghiPER	<LD	1,47	3,24	4,05	1,56	3,50	1,53	2,43
∑ 16 HPA	53,00	79,04	110,00	169,50	40,21	48,51	37,88	45,26
∑ HPA	78,97	310,57	2881,25	6019,19	61,27	161,92	222,48	381,65
% 16 HPA	72,78	25,45	3,82	2,82	68,00	29,96	16,58	11,86

Legenda Compostos: N, Naftaleno; C1N, C1 Naftaleno; C2N, C2 Naftaleno; C3N, C3 Naftaleno; C4N, C4 Naftaleno; ACF, Acenaftileno; ACE, Acenafteno; F, Fluoreno; C1F, C1 Fluoreno; C2F, C2 Fluoreno; C3F, C3 Fluoreno; DBZT, Dibenzotiofeno; C1DBZT, C1 Dibenzotiofeno; C2DBZT, C2 Dibenzotiofeno; C3DBZT, C3 Dibenzotiofeno; FEN, Fenantreno; C1FEN, C1 Fenantreno; C2FEN, C2 Fenantreno; C3FEN, C3 Fenantreno; ANT, Antraceno; FL, Fluoranteno; PIR, Pireno; C1PIR, C1 Pireno; C2PIR, C2 Pireno; BaANT, Benzo(a)Antraceno; CRIS, Criseno; C1CRIS, C1 Criseno; C2CRIS, C2 Criseno; BbFL, Benzo(b)Fluoranteno; BkFL, Benzo(k)Fluoranteno; BePIR, Benzo(e)Pireno; Benzo(a)Pireno; Per, Perileno; I-PIR, Indeno(1,2,3-cd)Pireno; DBahANT, Dibenzo(a,h)Antraceno; BghiPER, Benzo(ghi)Perileno.

Legenda Símbolos: IL, Ilha de Santana; EM, Estuário Macaé; PI, Pedrinhas Imboassica; PC, Praia Campista; ∑ 16 HPA, 16 Compostos Prioritários USEPA; <LD, < limite de detecção (variável; de 0,07 a 0,29 ng.g⁻¹); <LQ, < Limite de Qualificação (0,82 ng.g⁻¹).

De todos os HPAs analisados na Tabela 8 apenas o Acenaftileno e o Acenafteno não foram quantificados em nenhum dos pontos. O Dibenzo(a,h)Antraceno foi encontrado acima dos limites de quantificação apenas na segunda coleta do ponto PI. Observa-se ainda que as análises da primeira coleta dos pontos IS e PI apresentaram grande número de HPAs abaixo dos limites de detecção e quantificação, o que dificulta análise das origens dos mesmos.

Na Tabela 9 foram listadas concentrações obtidas pelo presente estudo, e outras oriundas de diferentes estudos com o bivalve *Perna perna* no litoral brasileiro. Ao se realizar comparações entre diferentes estudos deve-se ter cautela, tendo em vista que vários fatores poderão influenciar nos resultados como diferenças metodológicas, variações sazonais e quantidades de HPAs analisados.

Tabela 9 - Comparação da concentração de HPAs em estudos com mexilhões *Perna perna*

Local/Ponto de Coleta	HPAs	Concentrações (ng.g ⁻¹)	Referências
Lagoa dos Patos/RS	20 HPAs	65 - 560	(DEL ROSSO, 2005)
Baía de Guanabara/RJ	35 HPAs	60 - 6.271	(FRANCIONI et al. 2007)
Ubatuba/SP	38HPAs	70	(YOSHIMINE et al. 2012)
Baía de Guanabara/RJ	38HPAs	166 - 1.410	(YOSHIMINE et al. 2012)
Ilha de Santana (Macaé/RJ)	38HPAs	79 – 310	Presente estudo
Estuário Macaé (Macaé/RJ)	38HPAs	2.881 - 6.019	Presente estudo
Pedras Imboassica (Macaé/RJ)	38 HPAs	61 – 162	Presente estudo
Praia Campista (Macaé/RJ)	38 HPAs	222 - 382	Presente estudo

Levando-se em conta essas possíveis variáveis, foi verificado que as amostras coletadas no litoral de Macaé apresentaram diferentes níveis de concentrações de HPAs, ocorrência justificada pelo fato de se tratarem de indivíduos oriundos diferentes locais, que sofrem com diversificadas pressões naturais e antrópicas. Foram apresentadas baixas a moderadas contaminações nos pontos Pedras Imboassica (61 a 162 ng.g⁻¹), Ilha de Santana (79 a 310 ng.g⁻¹), e Praia Campista (222 a 382 ng.g⁻¹); com concentrações de HPAs equivalentes a locais de baixa e moderada contaminação como Ubatuba/SP (70 ng.g⁻¹) e Lagoa dos Patos/RS (65 a 560 ng.g⁻¹) respectivamente. Já o ponto Estuário Macaé (2.881 a 6.019 ng.g⁻¹) apresentou alto grau de contaminação por HPAs, equivalentes àqueles encontrados na Baía de Guanabara em estudos anteriores (60 a

6.271 ng.g⁻¹ em FRANCONI et al. 2007; 166 a 1.410 ng.g⁻¹ em YOSHIMINE et al. 2012).

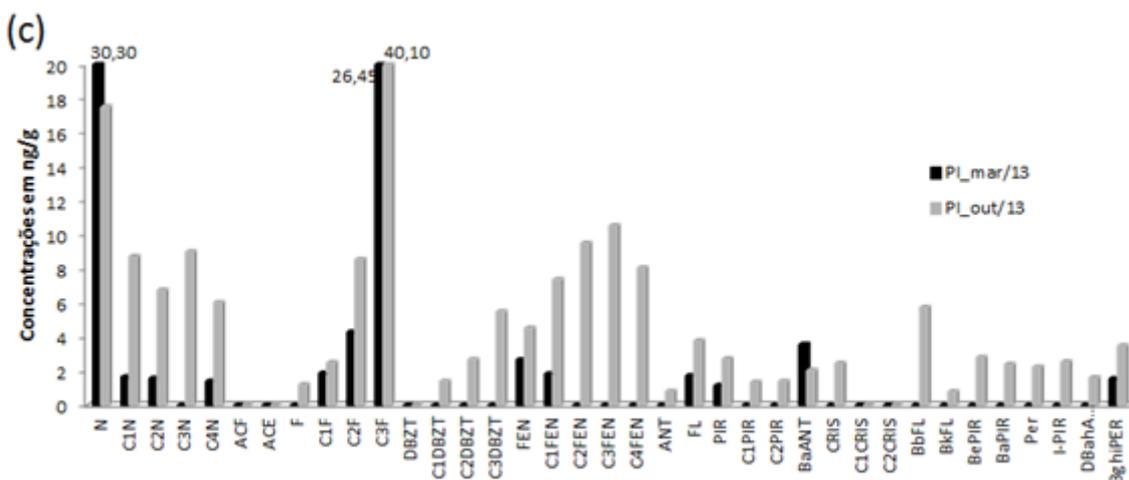
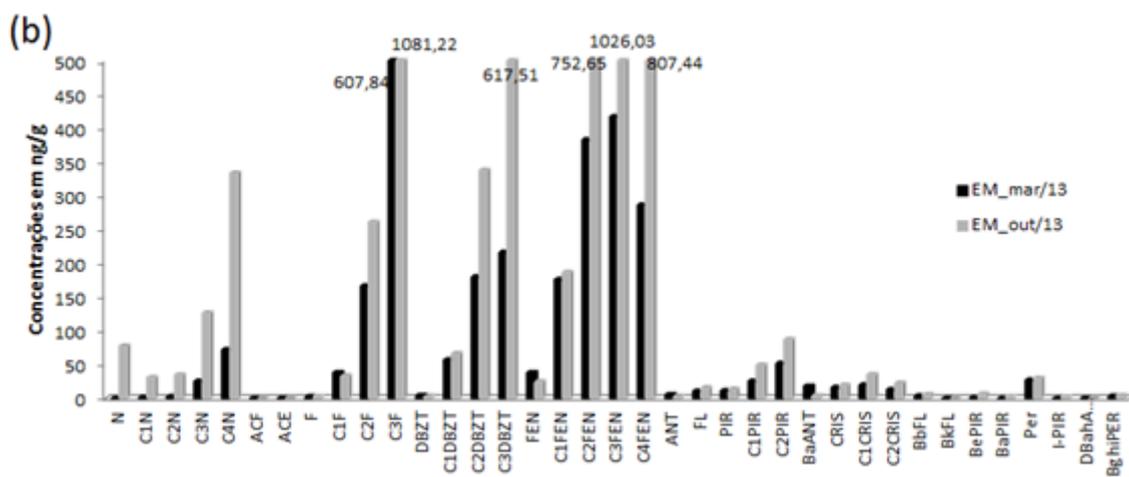
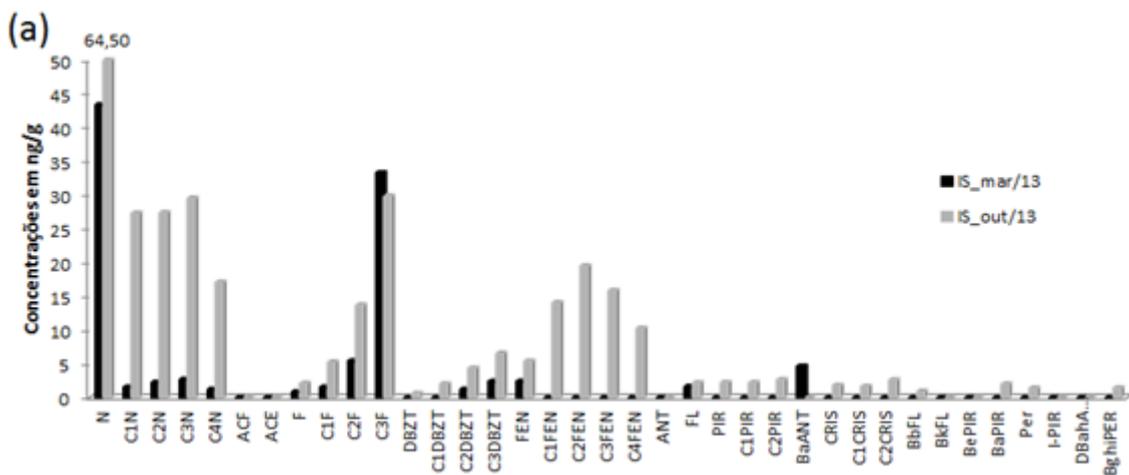
6.1.3. Avaliação da Origem dos HPAs

A Figura 8 ilustra a distribuição dos HPAs em cada ponto, em ambas coletas. Em todos os casos em análise, apesar das concentrações serem diferentes em cada estação, os alquilados homólogos naftalenos, fluorenos, dibenzotiofenos e fenantrenos foram predominantes, não nesta mesma ordem. Basicamente os pontos IS e PI apresentaram maiores concentrações de naftaleno e seus alquilados homólogos, seguidos dos de fluoreno e fenantreno, com menores concentrações de dibenzotiofeno. Os pontos EM e PC por sua vez apresentaram maiores concentrações de fluoreno e fenantreno (e seus alquilados homólogos), seguidos dos de dibenzotiofeno e por fim naftalenos. A relativa alta concentração de dibenzotiofenos reflete o intenso transporte marítimo e terrestre a base de diesel na região. Prováveis fontes são vazamentos e descartes urbanos de óleos não queimados.

Na maioria dos casos o fenantreno apresentou perfil em rampa ($C_0 < C_1 < C_2 < C_3$), com diminuição em C_4 . O fluoreno apresentou o mesmo perfil; caso semelhante ocorreu ao dibenzotiofeno. Nesta metodologia de análise o alquilado C_4 do fenantreno é utilizado como base de comportamento para o fluoreno e dibenzotiofeno. Assim sendo, adota-se o mesmo padrão para o perfil dos três elementos e seus alquilados homólogos.

O naftaleno por sua vez apresentou um comportamento particular em cada caso; em IS apresentou um pico maior em C_0 , posteriormente comportando-se no perfil de rampa, com diminuição em C_4 . Nos pontos EM e PC comportou-se traçando perfil de sino. O maior pico em C_0 indica aporte recente, tendo em vista sua rápida degradação no meio.

A identificação entre perfis de sino e rampa indicam contaminações recentes e já degradadas, respectivamente, tendo em vista a rápida degradação dos compostos menos alquilados em relação aos mais alquilados.



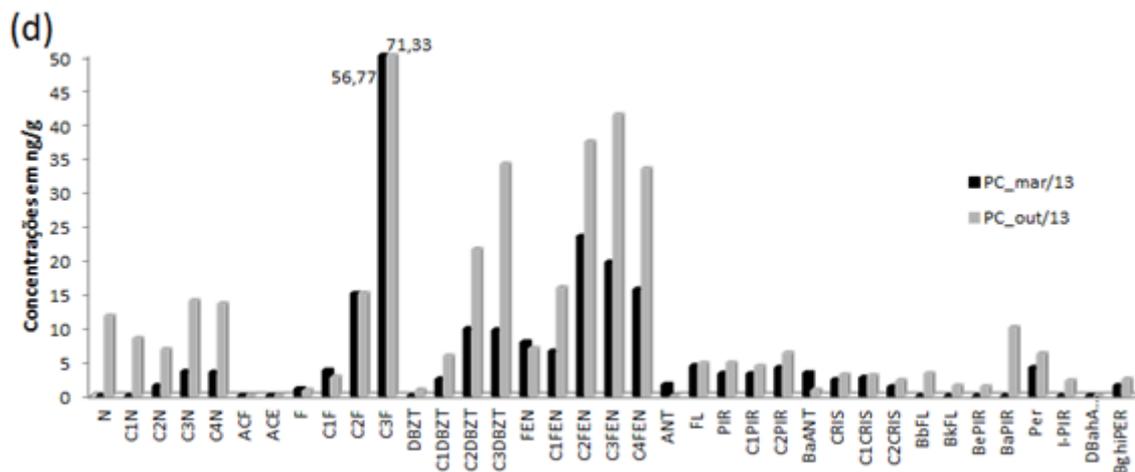


Figura 8 - Concentrações Individuais de HPAs.

(a) Ilha de Santana – IS; (b) Estuário Macaé – EM; (c) Pedras Imboassica – PI; (d) Praia Campista – PC.

Em todos os casos a incidência de crisenos nas análises foi a menor dentre os alquilados. Tal elemento e seus homólogos são substâncias persistentes no meio ambiente, mais resistentes à degradação se comparados com naftalenos, fenantrenos, dibenzotiofenos e fluorenos. Além disso, crisenos apresentam alto coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}), índice diretamente relacionado à afinidade a tecidos lipídicos (WANG et al. 1998).

Na Figura 9 são apresentadas as contribuições em percentual dos hidrocarbonetos leves (2-3 anéis aromáticos) e pesados (4-6 anéis aromáticos) em relação às duas coletas nos quatro pontos de estudo, considerando-se apenas os 16 HPAs prioritários. É sabido que a maior incidência de hidrocarbonetos leves (LMW) em relação aos pesados (HMW) sugere contaminação petrogênica, enquanto o contrário indica contaminação pirolítica. Além disso, a alta incidência de hidrocarbonetos alquilados estaria ligada à composição petrogênica.

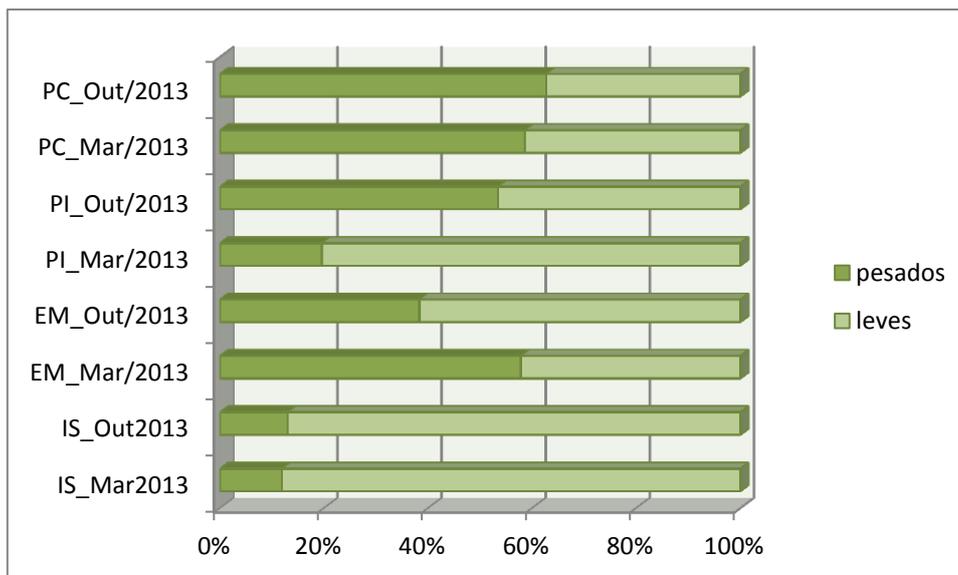


Figura 9 - Percentual de HPA's Leves e Pesados

Nota-se que em todos os pontos a relação entre hidrocarbonetos LMW e HMW das primeiras e segundas coletas foram semelhantes. A única exceção foi o ponto IS, provavelmente em consequência da quantidade de elementos abaixo dos limites de detecção na primeira coleta. Nos pontos IS e PI em ambas épocas amostrais do presente estudo a incidência de HPA's de LMW foi superior às de HMW, sugerindo contaminação por hidrocarboneto de fontes petrogênicas. O ponto PC apresentou maioria de HMW em ambas as coletas, sugerindo contaminação pirolítica; no entanto as concentrações muito próximas ao limiar de 50% não permite inferir-se sobre a real fonte dos contaminantes. O EM por sua vez teve maior percentual de LMW na primeira coleta, e menor na segunda, sempre próximo ao limite de 50%.

No item 3.3.4 do presente documento são apresentadas algumas metodologias aplicadas ao perfil de distribuição dos HPA's, que possibilitam inferir-se a respeito das respectivas origens das contaminações, se de contribuições petrogênicas ou pirolíticas (DOUGLAS et al., 1996; MAGI et al., 2002; PAGE et al., 1996; WANG et al., 1999). A utilização destes índices deve ser realizada com cautela, e em conjunto a outras análises, uma vez que outros fatores influenciam na assinatura dos hidrocarbonetos, como temperatura de combustão, fonte, tempo no ambiente (WANG et al., 1999). A Tabela 10 reproduz tais análises aplicadas aos resultados do presente estudo. É importante ressaltar a alta

incidência de elementos abaixo dos limites de detecção e quantificação conforme Tabela 8, o que pode influenciar nos resultados finais.

Tabela 10 - Metodologias de Análises das Origens dos HPAs

Ponto	2-3 AA/4-6 AA	C1FEN/FEN	FRT/PIR	Outros*	BaANT/CRIS	Σ DBZT/ Σ Cris	C2-DBZT/ C2-PIR
	>1 Petr	>2 Petr <2 Pir	>1 Pir <1 Petr	>0,8 Pir < 0,05 Petr	>0,9 Pir <0,4 Petro	>1 Petr	>1 Petr
IS1	7,40	-	-	0,06	-	-	-
IS2	6,68	2,59	0,96	0,02	-	2,21	1,65
EM1	0,73	4,63	0,96	0,01	1,12	9,27	3,47
EM2	1,61	7,55	1,16	0,01	0,20	13,17	3,86
PI1	4,11	0,69	1,50	0,09	-	-	-
PI2	0,87	1,63	1,39	0,14	0,84	3,89	1,90
PC1	0,71	0,83	1,35	0,05	1,43	3,44	2,38
PC2	0,59	2,27	0,99	0,07	0,28	7,45	3,42

Legenda: piro (fontes pirolíticas); petro (fontes petrogênicas); EM1 (Ponto Estuário Macaé – Coleta1); EM2 (Ponto Estuário Macaé – Coleta2); PC1 (Ponto Praia Campista – Coleta1); PC2 (Ponto Praia Campista – Coleta 2); IS1 (Ponto Ilha de Santana – Coleta1); IS2 (Ponto Ilha de Santana – Coleta2); PI1 (Ponto Pedrinhas Imboassica – Coleta 1); PI2 (Ponto Pedrinhas Imboassica – Coleta2).
Outros*: Razão entre o somatório (ACF, ACE, FRT, BaANT, BbFRT, BkFRT, NaPIR, I-PIR, DBahANT, BghiPER) e o somatório dos 5 HPAs alquilados – N, FEN, F, PIR, CRIS, DBZ – e seus homólogos). Cores do Realce: Petrogênicos; Pirolíticos; Indefinido.

Com exceção do ponto Ilha de Santana, onde todas as metodologias apresentaram origem petrogênica, todos os outros pontos e coletas, em no mínimo uma análise indicaram origens pirolíticas. O ponto Estuário Macaé, mais contaminado dentre todos analisados no presente estudo, apresentou menor ocorrência de resultados indicativos de perfil pirolítico. No entanto, ao se analisar não só o perfil qualitativo, mas também o quantitativo, verifica-se altas concentrações de elementos indicadores de origens pirolíticas, como o criseno. Tal fator pode ser resultado do grande aporte de efluentes domésticos e industriais, carregados pelo Rio Macaé até sua foz, misturados ao intenso tráfego de embarcações nas proximidades deste ponto.

Em seu estudo, Soclo et al. (1999) considerou que amostras com FEN/ANTR < 10 e FRT/PIR \leq 1 oriundas de mistura de fontes pirolíticas e petrogênicas, com grande caráter pirolítico. A amostra EM1 apresentou tal perfil.

Os pontos Pedras Imboassica e Praia Campista foram os que apresentaram mais indicadores de perfil pirolítico. No primeiro em ambas as coletas tal indicação foi

maioria comparando-se às indicadoras de perfil petrogênico; no ponto PC, o segundo mais contaminado no presente estudo, houve variação entre as coletas, a primeira com maioria de indicadores pirolíticos e a segunda petrogênicos. Este ponto está situado a menos de um quilômetro do Porto de Imbetiba, que possui grande movimentação de cargas. O fato de haverem resultados diferentes nas duas coletas indica possível mistura de fontes pirolíticas e petrogênicas.

A relação C2-DBZT/C2-PI é aplicada tendo como princípio a similaridade das propriedades físico-químicas destes compostos como solubilidade em água, taxas de degradação, coeficiente de partição octanol/água; o que faz com que tenham comportamentos semelhantes no meio ambiente e também nas taxas de bioacumulação. É um método aceito em análises de sedimentos, mas ainda não tem sua eficácia comprovada em organismos (WANG et al., 1999). Esta relação indicou contaminação petrogênica em todos os pontos e amostras.

A Figura 10 abaixo ilustra os perfis de distribuição dos alquilados homólogos Naftaleno e Criseno característicos de hidrocarbonetos de origens pirolíticas e petrogênicas. Ao se comparar tais perfis com aqueles dos resultados do presente estudo verifica-se uma mistura de equivalências a ambos os perfis.

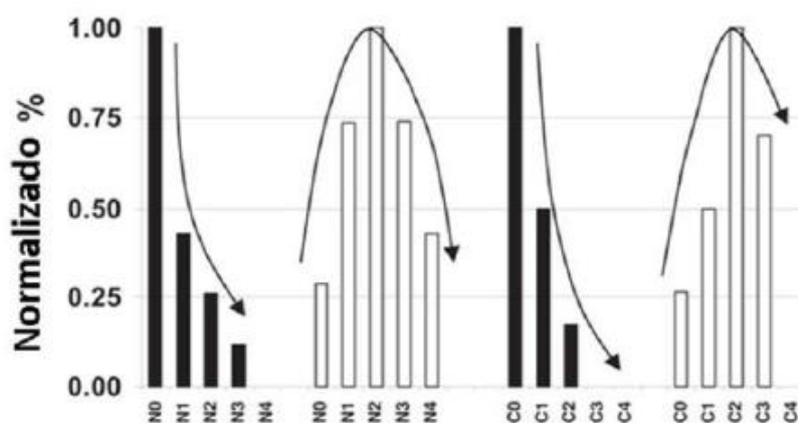


Figura 10 - Concentrações dos HPA's Alquilados Homólogos Naftaleno e Criseno Características de Fontes Petrogênicas (barra clara) e Pirolíticas (barra escura).

Fonte: (NEFF, 2002)

6.1.4. Análises Estatísticas

Primeiramente foi aplicado o teste de Shapiro Wilk com o objetivo de se verificar se os dados teriam ou não distribuição normal. Foi utilizado um grau de certeza de 95%; todas as amostras obtiveram distribuição não normal.

6.1.4.1. Kruscal-Wallis

O teste de Kruscal-Wallis foi aplicado com o objetivo de verificar se há diferença estatística significativa entre as concentrações dos HPAs entre os diferentes pontos, e também entre as de diferentes épocas no mesmo local. Para tal foram realizadas dois tipos de análises:

- Entre as amostras da primeira e segunda coleta, ponto por ponto;

Os pontos EM, PC, PI não apresentaram variância entre as coletas 1 e 2. O ponto IS foi o único a apresentar variância entre as coletas; $IS1 \neq IS2$ ($p < 0.05$).

- Entre todos os pontos, coleta por coleta;

Em ambas as coletas as amostras do ponto Estuário Macaé (EM1 e EM2) apresentaram variância em relação a todas as outras ($p < 0.05$). Entre si os pontos PC, IS e PI não obtiveram variância na segunda coleta; na primeira o PC2 diferenciou dos IS2 e PI2 ($p < 0.05$), que não diferenciaram entre si.

6.1.4.2. Análise das Componentes Principais (PCA)

Com o objetivo de se complementar as avaliações em relação às origens de contaminação, os dados foram submetidos a uma Análise das Componentes Principais (PCA). Os HPAs de todos os pontos foram analisados individualmente, conforme Figura 11 e Figura 12 abaixo, que representam as análises da primeira e segunda coleta, respectivamente.

Na primeira coleta os dois fatores mais significantes foram o Fator 1, explicando 69,28% da variância, e o Fator 2, com 29,22%. As amostras foram basicamente divididas em dois grupos. O primeiro, que inclui os pontos Estuário Macaé e Praia

Campista apresentou maiores influências de HPAs petrogênicos como C3 e C2 Fluoreno; seguidos de C1, C2, C3 e C4 Fenantreno; C2 e C3 Dibenzotiofeno. Todos os elementos citados indicam contaminação por fontes petrogênicas. Já o segundo grupo, que inclui os pontos Pedras Imboassica e Ilha de Santana, exibiu contribuição principalmente por Naftaleno e C3 Fluoreno. Ambos os elementos indicam contaminação petrogênica, sendo que a expressiva influência do Naftaleno remete a contaminações recentes, tendo em vista o curto tempo deste composto para ser degradado no meio ambiente.

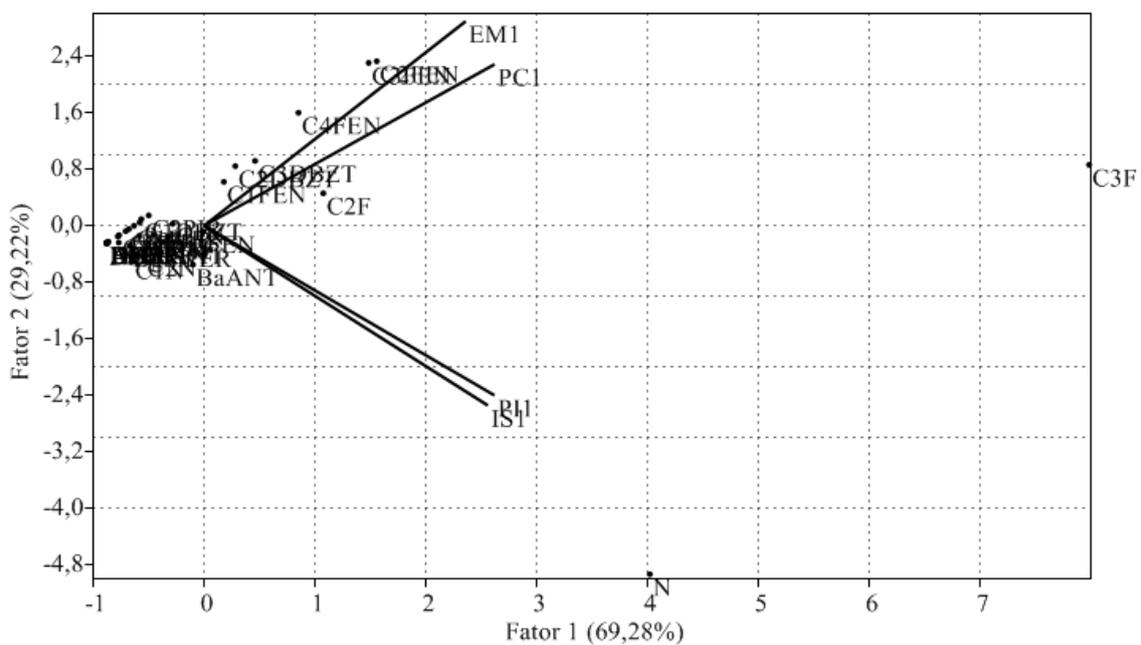


Figura 11 - HPAs - Análise das Componentes Principais – Coleta 01

Na segunda coleta os dois fatores da PCA mais relevantes obtiveram 74,92 e 19,84% de significância conforme Figura 12. Assim como na primeira coleta, os pontos EM e PC tiveram comportamento semelhante, assim como os IS e PI. O segundo grupo manteve-se semelhante à primeira coleta, tendo o C3 Fluoreno e o Naftaleno como principais influentes; mas acrescentando de seus homólogos alquilados C1, C2, C3 e C4 N.; além do C2 F e C1 Fantreno. Tal diferenciação entre as duas coletas pode indicar maior grau de decomposição dos poluentes, ilustrando um cenário em maior estágio de decomposição.

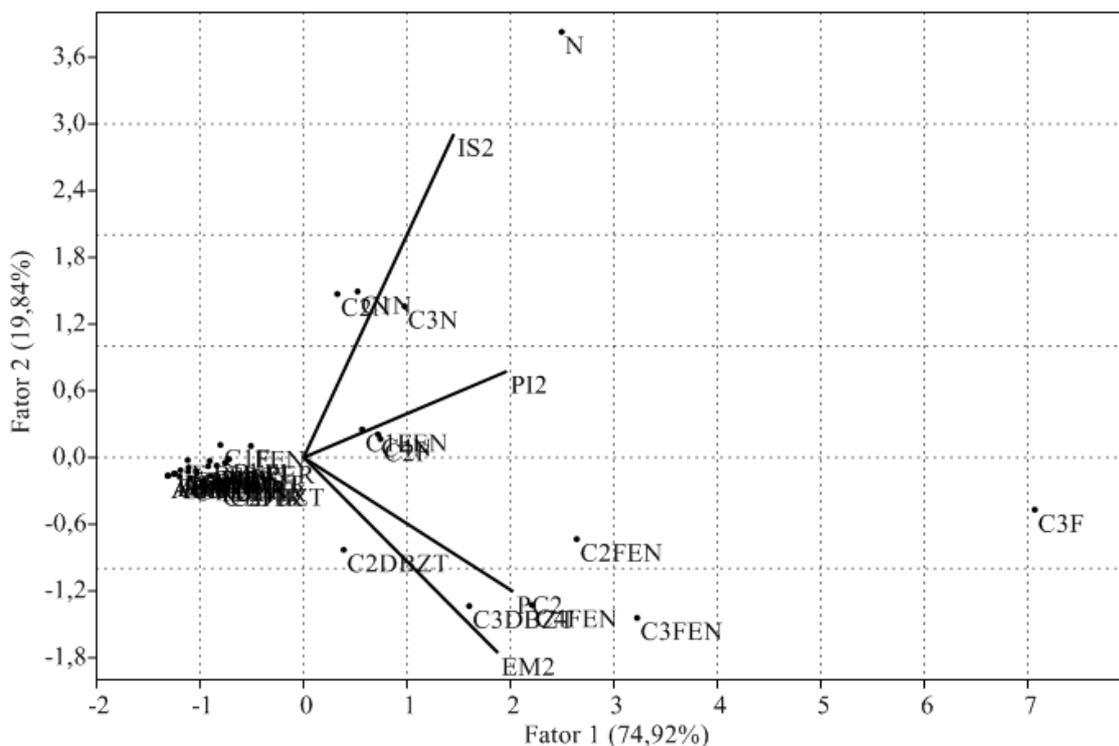


Figura 12 - HPA's - Análise das Componentes Principais – Coleta 02

O primeiro grupo (EM e PC) apresentou comportamento praticamente igual ao da primeira coleta com maiores influências de HPA's petrogênicos como C3 Fluoreno; seguidos de C2, C3 e C4 Fenantreno; C2 e C3 Dibenzotiofeno. Cabe observar que o naftaleno, abaixo do limite de detecção na primeira campanha foi detectado em ambas amostras na segunda campanha; no entanto em significância muito inferior aos supracitados.

6.1.5. Risco Potencial à Saúde Humana

A contaminação do ambiente aquático por Hidrocarbonetos Policíclico Aromáticos é fator de preocupação à saúde humana. Por serem compostos hidrofóbicos e lipofílicos, estes se acumulam nos tecidos animais, podendo causar riscos ao serem ingeridos pela população. Além disso, alguns têm reconhecido potencial mutagênico e carcinogênico conforme item 3.3.6 do presente estudo.

Avaliar o impacto da contaminação ambiental e de organismos por HPA's é uma tarefa complicada, tendo em vista as diferenças de toxicidade e comportamento de cada um

deles. Algumas organizações internacionais como a Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA), Agência de Proteção do Ambiente Marinho do Atlântico Norte (OSPAR), Comissão Europeia (EUROPEAN-COMISSION), estabeleceram alguns valores máximos de concentração de HPAs em organismos marinhos para que sejam considerados propícios ao consumo humano, conforme Tabela 11.

Tabela 11 - Limites de Concentrações de HPAs em Alimentos para Ingestão (peso seco ng.g^{-1})

HPA	conc.(ng.g^{-1})	Referência
Antraceno	5 a 50	(OSPAR, 1997)
Fluoranteno	1000 a	
Pireno	10.000	
Fenantreno	500 a 50.000	
Benzo(a)Pireno		(EUROPEAN-COMISSION, 2006)
Benzo(a)Pireno	71,4	
Total HPAs	44.400	(EPA, 2000)

A concentração do Antraceno, elencada na Tabela 11, foi atingida pela segunda coleta do ponto Estuário Macaé, com concentração média em peso seco de $5,53 \text{ ng.g}^{-1}$.

Todos os valores considerados na Tabela 11 são de organizações situadas em regiões de climas temperados. Assim sendo, sua utilização em estudos em regiões tropicais deve ser realizada com cautela, tendo em vista que o comportamento dos HPAs no meio, assim como os padrões de absorção dos mesmos pelos bivalves podem se dar de formas diversas. Não foram encontrados valores de referência em fontes de dados nacionais.

6.1.6. Risco aos Organismos Marcadores de Poluição

Na Tabela 5 foram listados os valores relativos às Concentrações de Baixo Efeito (CBE) e de Alto Efeito (CAE) nos organismos segundo Neff (1979), em relação aos HPAs. Em comparação aos resultados encontrados no presente estudo, apresentados na Tabela 8, alguns HPA's superaram as CBE (Naftaleno, Fluoreno, Fenantreno, Criseno), além do ponto EM ter superado em relação ao somatório total dos 38 HPAs. As CAE também foram superadas nas concentrações de dois elementos: Fluoreno e Fenantreno.

6.1.7. Conclusão

Os resultados indicaram contaminação por hidrocarbonetos no Estuário Macaé, devido ao aporte de efluentes líquidos urbanos carregados pelo Rio Macaé, e no Praia Campista, devido ao intenso tráfego de embarcações pela proximidade ao Porto de Imbetiba. Os pontos mais distantes das fontes de contaminação, IS e PI, apresentaram baixa a média contaminação por HPAs, indicando necessidade de precauções para que não se venham a tornar áreas contaminadas. O estudo produziu importantes informações para o planejamento e monitoramento ambiental, em carência na região marítima de Macaé.

6.2. Avaliação regional da contaminação por Metais Pesados no litoral de Macaé/RJ usando mexilhões (*Perna perna* Lineaus 1758) como biomarcadores

Na Tabela 12 encontram-se listadas as concentrações (em $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso seco) das amostras das duas Coletas, sendo a n.1 realizada em março de 2013, e a n.2 em outubro de 2013. Foram listadas concentrações médias e desvio padrão dos metais pesados Alumínio, Cromo, Manganês, Ferro, Níquel, Cobre, Zinco, Cádmio, Chumbo. Foi utilizado o material certificado NIST 2976 para verificação do percentual de recuperação, que foi satisfatório para todos os pontos e metais.

Tabela 12 - Concentrações Médias de Metais Pesados com Respectivos Desvios Padrões ($\mu\text{g/g}$)

	27 Al	53 Cr	55 Mn	56 Fe	60 Ni	65 Cu	66 Zn	114 Cd	208 Pb
COLETA N.1									
PI1	1004,00	1,97	12,97	621,78	13,10	4,84	105,39	0,65	0,81
(σ)	(165,58)	(0,36)	(2,49)	(82,51)	(2,24)	(0,69)	(18,65)	(0,04)	(0,16)
EM1	595,35	0,76	18,49	451,08	10,01	6,24	107,95	0,29	0,64
(σ)	(25,65)	(0,02)	(1,25)	(12,13)	(0,80)	(0,27)	(5,45)	(0,06)	(0,36)
IS1	390,17	2,14	8,69	257,36	8,49	4,92	91,54	0,64	0,49
(σ)	(21,84)	(0,31)	(1,23)	(23,67)	(0,50)	(0,37)	(13,89)	(0,01)	(0,14)
PC1	1012,28	1,56	12,31	604,44	12,39	5,59	120,04	0,47	0,51
σ	(115,10)	(0,11)	(0,58)	(41,88)	(0,35)	(0,18)	(3,71)	(0,01)	(0,04)
COLETA N.2									
PI2	1353,85	2,50	10,48	743,46	12,66	4,11	99,74	0,52	0,90
(σ)	(324,00)	(0,48)	(1,98)	(187,83)	(2,64)	(0,19)	(10,20)	(0,03)	(0,10)

EM2	1136,98	1,21	10,32	609,45	10,94	5,26	108,35	0,37	0,90
(σ)	(132,90)	(0,23)	(1,87)	(34,22)	(2,13)	(1,01)	(19,05)	(0,02)	(0,20)
IS2	984,93	1,37	9,27	534,82	12,27	5,14	113,24	0,56	0,66
σ	(116,76)	(0,17)	(0,64)	(60,96)	(2,33)	(0,23)	(13,93)	(0,04)	(0,09)
PC2	1254,82	2,34	12,50	689,14	9,25	5,29	100,80	0,42	0,56
σ	(189,65)	(0,85)	(1,50)	(125,04)	(0,93)	(0,39)	(3,87)	(0,03)	(0,07)
RECUP.	0,98	0,91	-	1,02	0,89	0,90	1,03	0,93	1,13
σ	(0,03)	(0,04)	-	(0,02)	(0,03)	(0,01)	(0,00)	(0,02)	(0,03)

Os dados da Tabela 12 estão reproduzidos em forma de gráfico na figura abaixo para melhor visualização. Nota-se uma aparente homogeneidade em relação às concentrações de metais entre os diferentes pontos e coletas.

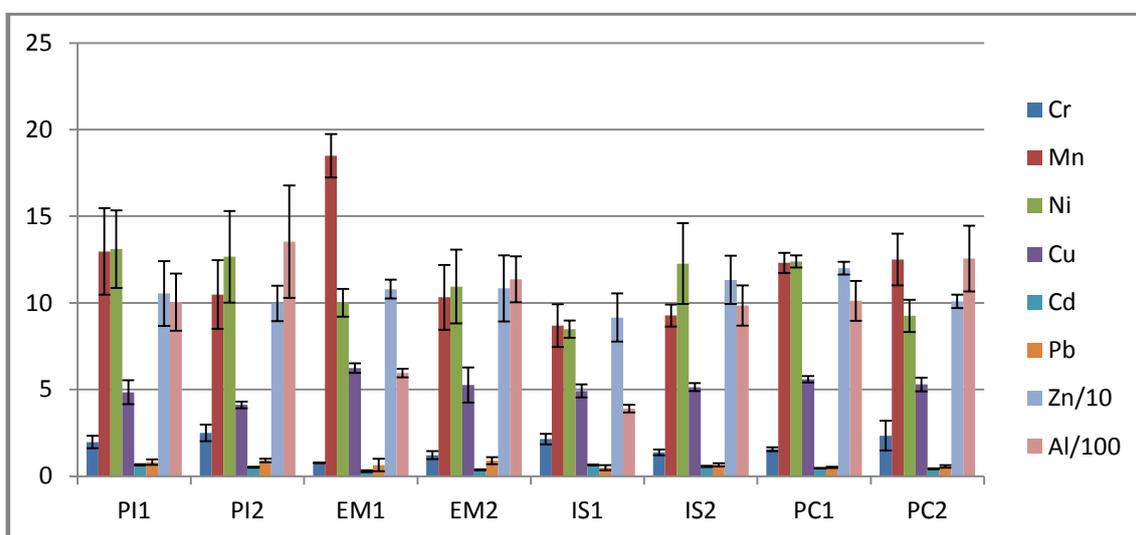


Figura 13 - Concentrações Médias de Metais Pesados e Desvios Padrões

6.2.1. Análises Estatísticas

Foram realizados alguns testes estatísticos para se verificar a existência de diferenças significativas de concentrações dos metais entre os pontos. Primeiramente foi aplicado o teste de Shapiro Wilk com o objetivo de se verificar se os dados teriam ou não distribuição normal. Foi utilizado um grau de certeza de 95%, onde todos metais apresentaram distribuição normal. Em seguida foi aplicado teste de Levene, que indicou homocedasticidade para todos os elementos.

A Análise de Variância (ANOVA) foi aplicada com o objetivo de verificar se há diferença estatística significativa entre as concentrações dos Metais Pesados entre os diferentes pontos ($p < 0.05$), e também entre as de diferentes épocas no mesmo local. Em todas as comparações a análise indicou ausência de diferença significativa entre os pontos e épocas amostrais, o que indica mesmo grau de contaminação em todos os pontos e épocas de coleta.

6.2.1.1. Análise das Componentes Principais (PCA)

Com o objetivo de se verificar os pontos que maiores concentrações apresentaram, em relação a cada metal pesado analisado, submeteu-se os dados a uma Análise das Componentes Principais (PCA).

Na Figura 14 foram analisados os dados da primeira coleta. O ponto EM1 foi o que apresentou como principal componente das concentrações de Manganês e Cobre; o mesmo ocorreu com o P11 em relação Chumbo. Quanto aos demais metais preponderou mistura de influência de vários pontos.

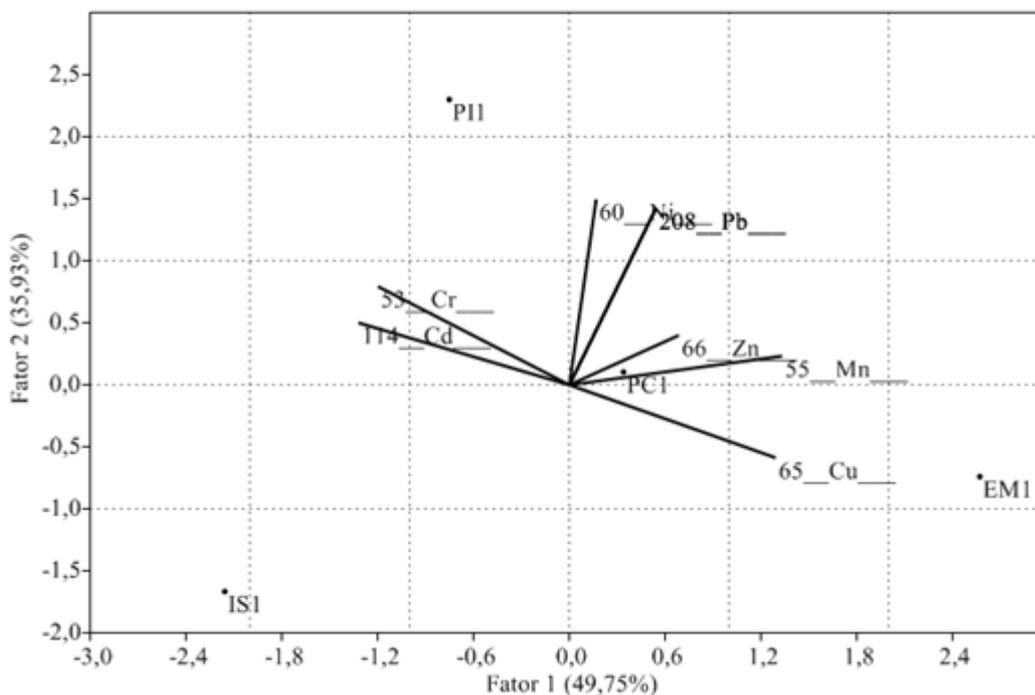


Figura 14 - Metais Pesados - Análise das Componentes Principais – Coleta 01

Os dados da segunda coleta foram aplicados em PCA, conforme Figura 15. Todos os metais tiveram diversas contribuições, não sendo possível definir um ponto mais influente para nenhum deles. Conforme verificando na Análise de Variância, não há diferença significativa entre os pontos, inviabilizando uma comparação entre os mesmos.

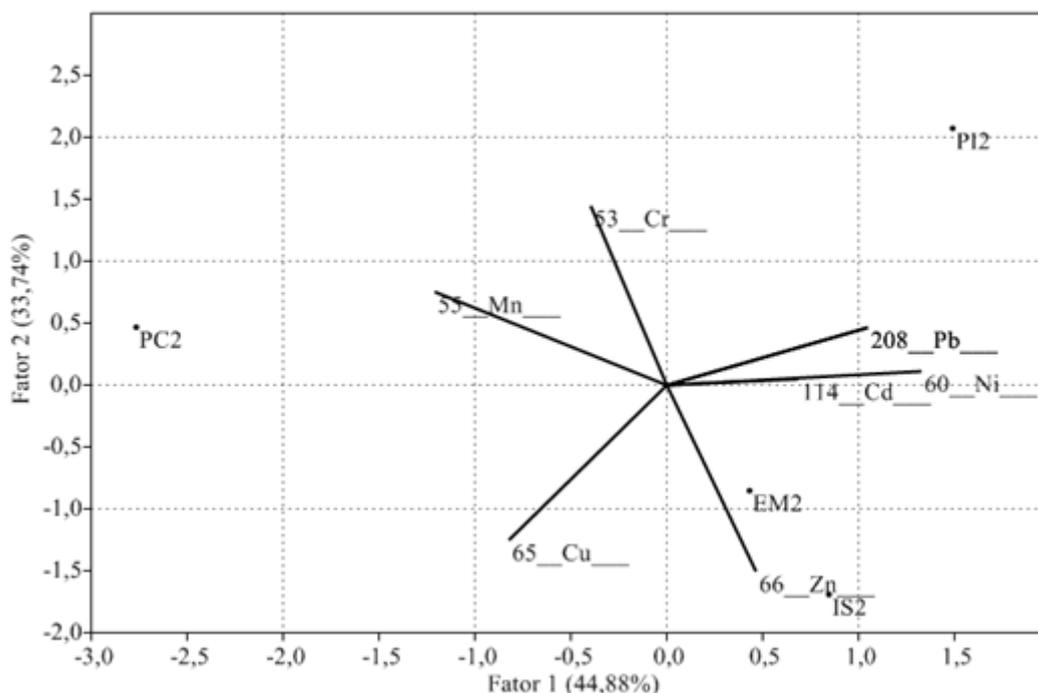


Figura 15 - Metais Pesados - Análise das Componentes Principais – Coleta 02

6.2.2. Avaliação da Contaminação por Metais Pesados

Na Tabela 13 são listadas as concentrações de metais pesados em mexilhões *Perna perna* de estudos anteriores e aquelas encontradas no presente estudo. Constan ainda na referida tabela as Concentrações Máximas Permitidas (CMP), definidas pelo Ministério da Saúde. Os elementos Al, Fe e Mn foram excluídos nesta análise, tendo em vista a ausência de informações sobre os mesmos em valores e estudos de referência.

Dentre todos os seis compostos analisados apenas nos casos do Cromo as concentrações do litoral de Macaé apresentou resultados superiores às CMP. Nota-se que para este metal, todas as outras localidades da Tabela 13 também extrapolaram o referido índice de referência.

Tabela 13 - Metais Pesados em Mexilhões - Presente Estudo x Estudos Anteriores ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

Local	Cd	Pb	Cu	Zn	Cr	Ni	Fonte
Ubatuba SP	0,98-4,57	3,94-60	1,63-8,9	43,18-132,7	0,23-48,48	-	Avelar et al., 1999
Baía de Guanabara RJ	0,019-0,04	-	1,04-2,96	8,4-25,2	0,22-0,57	-	Francioni et al., 2007
Baía de Guanabara RJ	0,1-0,4	-	0,4-12,5	89,1-307,1	0,2-1,0	-	Francioni et al., 2004
Baía de Guanabara RJ	-	4,21-5,09	6,86-11,40	119-497	-	5,1-8,3	Rezende & Lacerda, 1986
Baía de Guanabara RJ	0,2-0,5	2,2-3,7	6,0-9,5	89,6-236,2	1,7-3,3	6,8-8,2	Kehrig et al., 2007
Rio Grande do Sul ****	0,086-1,0	0,35-1,23	3,8-20,6	41-109	0,53-2,96		Baraj et al., 2003
Litoral Macaé	0,29-0,65	0,35-0,90	4,11-6,24	98,45-120,04	0,76-2,50	8,61-13,10	Presente Estudo
CMP	5,00***	7,50**	150,00*	250,00*	0,50*	25,00*	(*) (**) (***)

(*) Decreto nº 55871 de 26 de março de 1965; (**) RDC nº 42, 29 de Agosto de 2013; (***) Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998; CMP – Valores transformados proporcionalmente a peso seco considerando umidade de 80%. (****) Valores mínimos e máximos - 15 diferentes pontos em 800 km de costa.

Em comparação a outros estudos os pontos do Litoral de Macaé obtiveram, de maneira geral, menores concentrações de metais pesados em relação à Ubatuba (AVELAR et al., 1999) e Rio Grande do Sul (BARAJ et al., 2003); e semelhantes àquelas encontradas em Baía de Guanabara (KEHRIG et al., 2007) e Rio de Janeiro (FRANCIONI et al., 2004).

Nota-se que em todos os casos a Tabela 13 se trata de locais com indícios de elevados índices de contaminação antrópica, seja doméstica ou industrial. O cromo, considerado metal não essencial e potencialmente cancerígeno (PHILLIPS et al., 1982), foi o único elemento acima das CMP. A presença de cromo pode estar ligada a efluentes industriais, produção de alumínio e aço, tintas, pigmentos (PIVELI & KATO, 2005).

Na Tabela 14 é apresentada uma comparação dos resultados do presente estudos com alguns outros realizados em locais internacionais. Em relação a locais de extrema contaminação, como México (VASQUEZ, 1993) e Austrália (HARDIMAN & PEARSON, 1995), as concentrações do presente estudo foram significativamente

inferiores em relação ao Zinco, Cobre e Cádmio. Em comparação às demais localidades, de média contaminação, foram variáveis, ora apresentando maiores, ora menos concentrações.

Tabela 14 - Metais Pesados em Organismos - Presente Estudo x Estudos Internacionais ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

Local	Bivalve	Cd	Pb	Cu	Zn	Cr	Ni	Fonte
Costa Chilena	<i>Semelle sólida</i>	0,90-4,50	0,09-0,29	4,80-6,50	-	-	-	De Gregori et al., 1995
Golfo da Tailândia	<i>Perna viridis</i>	3,70-9,00	-	1,50-10,00	33,20-67,8	0,50-5,70	-	Sukasem & Tabucanon, 1993
Austrália	<i>Saccostrea</i>	0,80-2,40	0,16-0,48	240-720	1440-5600	1,20-2,80	-	Hardiman & Pearson, 1995
Venezuela	<i>Isognomon alatus</i>	0,33-0,91	0,4-0,71	14-49	0,25-2,1	0,46-1,2	11 a 18	Jaffé et al. 1998
México	<i>Crasostrea</i>	3,8-4,4	-	284-380	426-759	-	-	Vasquez, 1993
Litoral Macaé	<i>Perna perna</i>	0,29-0,65	0,35-0,90	4,11-6,24	98,45-120,04	0,76-2,50	8,61-13,10	Presente Estudo

6.2.3. Ilha de Santana

De todos os pontos analisados no presente estudo, o Ilha de Santana é o único que tem informações anteriores a respeito de metais pesados em Mexilhões *Perna perna*. Na Tabela 15 foram listadas as concentrações nos pontos IS1 e IS2 do presente estudo, e de Carvalho et. al. (2001).

Tabela 15 - Metais Pesados em Mexilhões – Ilha de Santana ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

Local	Al	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb	Fonte
Ilha de Santana RJ	395	1,25	2,45	170	8,9	5,1	83	0,38	1,8	Carvalho et al., 2001
(σ)	(73)	(0,03)	(0,4)	(35)	(0,37)	(0,22)	(5,1)	(0,02)	(0,08)	
IS1	390,17	2,14	8,69	257,36	8,49	4,92	91,54	0,64	0,49	Presente estudo
(σ)	(21,84)	(0,31)	(1,23)	(23,67)	(0,50)	(0,37)	(13,89)	(0,01)	(0,14)	
IS2	984,93	1,37	9,27	534,82	12,27	5,14	113,24	0,56	0,66	
(σ)	(116,76)	(0,17)	(0,64)	(60,96)	(2,33)	(0,23)	(13,93)	(0,04)	(0,09)	

O presente estudo apresentou aumento nas concentrações da maioria dos metais analisados (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Cd) em relação ao estudo anterior. Dentre todos os elementos apenas o Pb apresentou diminuição nas concentrações, fator que pode ser explicado por ocorrência de evaporação, muito comum para este elemento. O Cu manteve-se em concentrações equivalentes.

6.2.4. Conclusão

Os resultados indicaram contaminação acima das Concentrações Máximas Permitidas para o elemento Cromo em todos os pontos analisados no presente estudo. Em comparação ao estudo anterior realizado na Ilha de Santana, verificou-se aumento nas concentrações da maioria dos metais pesados (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Cd), fator preocupante, tendo em vista a gradual aproximação destas concentrações a valores tidos como de risco. É importante a constante realização de estudos de monitoramento dos metais pesados em tecidos de biota marinha, de forma a se acompanhar a evolução dos elementos metálicos no ambiente marinho.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises das amostras de mexilhão *Perna perna* revelaram três diferentes graus de contaminação: (1) baixa a moderada nos pontos PI (61 a 162 ng.g⁻¹) e IS (79 a 310 ng.g⁻¹); (2) moderada no ponto PC (222 a 382 ng.g⁻¹); (3) alta no EM (2.881 a 6.019 ng.g⁻¹). Tais resultados indicaram panoramas já esperados, como a alta contaminação no Estuário, uma vez que o Rio Macaé, após cursar pelo interior de áreas urbanas e com presença de indústrias, deságua no oceano carregado de efluentes líquidos domésticos e industriais, ainda não tratados de forma eficaz no município. O ponto Praia Campista, com moderada contaminação, está localizado a cerca de 1 km do Porto de Imbetiba, que sofre com intenso tráfego de embarcações. Os pontos PI e IS, com baixas a moderadas contaminações, ainda que distantes das principais atividades poluidoras, estão relativamente próximos a outras como o canal extravasor da Lagoa de Imboassica no primeiro caso; e o tráfego moderado de embarcações e dutos de petróleo, no segundo. Além disso, todos os pontos estão sujeitos à deposição atmosférica dos materiais particulados oriundos da cidade de Macaé.

As diversas relações e indicadores que foram aplicadas com o objetivo de se constatar as possíveis fontes de contaminação indicaram ora origens pirolíticas ora petrogênicas para todos os pontos. Assim sendo, concluiu-se o caráter de uma mistura de fontes de poluição para todos os locais de coleta.

As análises de metais pesados, por sua vez, não indicaram diferença significativa de contaminação entre os pontos. No entanto, ao serem comparados a locais com conhecida poluição como a Baía de Guanabara, apresentaram médias semelhantes de contaminação. Em relação às Concentrações Máximas Permitidas para alimentos do Ministério da Saúde, os metal Cromo (0,76-2,50 µg/g), que possui conhecido potencial cancerígena, obteve médias superiores. Tal fator é um indicador de contaminação por efluentes industriais e queima de combustíveis fósseis, o que corrobora com os resultados obtidos nas análises de hidrocarbonetos.

Em relação aos limites de concentração de HPAs em alimentos indicados por órgãos internacionais como Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA), Agência de

Proteção do Ambiente Marinho do Atlântico Norte (OSPAR), Comissão Europeia (EUROPEAN-COMMISSION); o elemento Antraceno superou os limites mínimos estabelecidos no ponto Estuário Macaé, fator de preocupação à saúde pública.

Em todos os pontos de coleta dos mexilhões *Perna perna* do presente trabalho é comum observar-se banhistas e pescadores, seja frequentando os locais para banho seja para a extração de organismos marinhos para alimentação.

O presente estudo produziu importantes informações que deram indícios de contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e Metais Pesados no litoral de Macaé. Tal situação gera preocupações não só de saúde pública, mas também em relação à manutenção da saúde do ambiente e de seus organismos. Espera-se que tais informações auxiliem o planejamento e monitoramento ambiental, em carência na região marítima de Macaé, e sirvam como base para estudos posteriores.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANP-AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO. Relatório Anual de Segurança Operacional das Atividades de Exploração e Produção de Petróleo e Gás Natural (2011). Disponível em <www.anp.gov.br>. Acesso em 08/07/2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RDC nº 42, de 29 de Agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos.
- ATSDR. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). D.O.H.a.H. Services. Atlanta: Public Health Service, 1995.
- AZEVEDO, F. A; CHASIN, A A M. 2003. Metais: gerenciamento da toxicidade. São Paulo. Editora Atheneu. 554p.
- AVELAR, W.E.P.; MANTELATTO, E.L.M.; TOMAZELLI, A.C.; SILVA, D.M.L.; SHUHAMA, T.; LOPES, J.L.C. The marine mussel *Perna perna* (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) as an indicator of contamination by heavy metals in the Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 118, p. 65-72, 2000.
- BALKAS, T.I.; SULEYMAN, T.; SOLIHOGHU, I. Trace metal levels in fish and crustacean from North Eastern Mediterranean coastal waters. *Marine Environmental Research*, v. 6, p. 281-289, 1982.
- BARAJ, B.; NIENCHESKI, L.F.; CORRADI, C. Trace metal content trend of mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758) from the Atlantic coast of Southern Brazil. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 145, p. 205-214, 2003.
- BAUMARD, P., BUDZINSKI, H., GARRIGUES, P., 1998. Concentrations of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. *Marine Pollution Bulletin* 36, 951-960.
- BAYNE, B.L. Primary e secondary settlement in *Mytilus edulis* L. (Mollusca), *J. Anim. Ecol.*, *Helsingør*, V.33, p.513-523, 1964.

- BENCE, A.E., KVENVOLDEN, K.A., KENNICUTT, M.C., 1996. Organic geochemistry applied to environmental assessments of Prince William Sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill--a review. *Organic Geochemistry* 24, 7-42.
- BLUMER, M., GUILLARD, R.R.L., CHASE, T., 1971. Hydrocarbons of Marine Phytoplankton. *Marine Biology* 8, 183--189.
- BOALCH, R., CHAN, S. AND TAYLOR, T.: 1981, Seasonal variation in the trace metal content of *Mytilus edulis*, *Mar. Pollut. Bull.* 12, 276-280.
- BRANCO, C.W.C., ATTAYDE, J.L., KOZLOWSKY-SUZUKI, B. Zooplankton community of coastal lagoon subjected to anthropogenic influences (Lagoa de Imboassica, Macaé, R.J., Brazil). *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 26: 1426-1429, 1998.
- BOEHM, P.D.; DOUGLAS, G.S.; BURNS, W.A.; MANKIEWICZ, P.J.; PAGE, D.A.; BENCE, A.E. 1997. Application of petroleum hydrocarbon chemical fingerprinting and allocation techniques after the Exxon Valdez oil spill. *Marine Pollution Bulletin*, 34: 599-616.
- BUDZINSKI, H., GARRIGUES, P., BERNARD, G., BELLOCQ, J., HINRICHS, K., RULLKÖTTER, J., 1997. Identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Amazon Fan: occurrence and diagenetic evolution. In: R.D. FLOOD, D.J.W. PIPER, A. KLAUS, L.C. PETERSON (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, vol. 155, pp. 555-564.
- CARDOSO, A.G.A.; BOAVENTURA, G.R.; SILVA FILHO, E.V. & BROD, J.A. (2001) Metal distribution in sediments from the Ribeira Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12 (6): 767-774.
- CARVALHO, C.E.V.; CAVALCANTE, M.P.O. ; GOMES, M.P. ; FARIA, V.V.; REZENDE, C.E. Distribuição de Metais Pesados em Mexilhões (*Perna perna*, L.) da Ilha de Santana, Macaé, SE, Brasil. *Laboratório de Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, 2001.*
- CARVALHO, C.E.V.; LACERDA, L.D. Metais pesados em mexilhões (*Perna perna*) no litoral do estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 46, n. 1, p. 239-247, 1986.

- CARVALHO, C.E.V.; LACERDA, L.D. Heavy metals in the Guanabara Bay biota: Why such low concentration? *Ciência e Cultura*, v. 44, n. 23, p. 184-186, 1992.
- CHASSARD-BOUCHAUD, C.; GALLE, P. 1988. Bioacumulation d'aluminium par les organismes marines. Mise en evidence par microscopie copusculaire analytique. *CR Acad Sci Paris*, 302(III):55-61. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq.* 56: 358-392.
- COKER, E.G; MATTHEUS, P.J. Metals in sewage sludge and their potential effects in agriculture. *Water Science and Technology*, v.15, p.209-225, 1983. In: MACÊDO, J. A B. 2002. *Introdução à Química Ambiental- Juiz de Fora - MG.* 1ed. 487p.
- COPELAND, G.; MONTEIRO, T.; COUCH, S. & BORTHWICK, A. 2003. Water quality in Sepetiba Bay, Brazil. *Marine Environmental Research* 55: 385–408.
- COSTA, R.N. 2010. *Ecotoxicologia Como Ferramenta Para Análise Da Qualidade Ambiental do Estuário do Rio Macaé.* Dissertação de Mestrado: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense. 79p.
- COULON, J.; TRUCHET, M.; MARTOJA, R. 1987. Chemical features of mussels (*Mytilus edulis*) in situ exposed to an effluent of the titanium dioxide industry. *Ann Inst Océanogr Paris.* 63:89-100. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq.* 56: 358-392.
- CRETNEY, W.J., GREEN, D.R., FOWLER, B.R., HUMPHREY, B., FIEST, D.L., BOEHM, P.D., 1987. Hydrocarbon Biogeochemical Setting of the Baffin Island Oil Spill Experimental Sites. *Arctic.* Vol. 40, p. 66-70.
- DE GREGORI, I., DELGADO, D., PINOCHET, H., GRAS, N., MUÑOZ, L., BRUHN, C. AND NAVARRET, G.: 1995, *Sci. Total Environ.* 148, 1.
- DEL ROSSO, C.B. 2005. *Avaliação dos aportes de hidrocarbonetos à lagoa dos patos (RS – Brasil).* Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande.

- DEPLEDGE, M.H., WEEKS, J.M., BJERREGAARD, P., 1994. Heavy metals. In: CALOW, PETER. (Ed.), Handbook of Ecotoxicology, vol. 2. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 79 e105.
- DOUGLAS, G.S.; BENCE, A.E.; PRINCE, R.C.; MCMILLEN, S.J.; BUTLER, E.L. 1996. Environmental stability of selected petroleum hydrocarbon source and weathering ratios. Environmental Science & Technology, 30:2335-2339.
- EPA. Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories. Risk Assessment and Fish Consumption Limits. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC 2000.
- EPA. Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons: United States Environmental Protection Agency. Washington, DC 1993.
- EUROPEAN-COMMISSION. Commission Regulation (EC) No 1881/2006. Maximum levels for certain contaminants in foodstuff. December 2006
- FARRINGTON, J. W. ; DAVIS, A. C.; TRIPP, B. W.; PHELPS, D. K.; GALLOWAY, W. B. "Mussel Watch" – measurements of chemical pollutants in bivalves as one indicator of coastal environmental quality. In: BOYLE, T.P (ed.). New approaches to monitoring aquatic ecosystems. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 125-139, 1987.
- FERREIRA, J.F.; MAGALHÃES, A.R.M. Cultivo de Mexilhões. Laboratório de Cultivo de Moluscos Marinhos, 2010. Universidade Federal de Santa Catarina.
- FERGUSSON, J.E. The heavy elements: chemistry, environmental impact and healthy effects. Glasgow: Pergamon Press, 1990. 614 p. In: MACÊDO, J. A B. 2002. Introdução à Química Ambiental- Juiz de Fora - MG. 1ed. 487p.
- FINGAS, M., A literature review of physics and predictive modeling of oil spill evaporation. Journal of Hazardous Materials, 1995, 42, 157-175.
- FÖRSTNER, U. 1989. Contaminated Sediments. Springer-Verlag. Berlin. Lecture notes in Earth Sciences, v. 21. 157p.

- FÖRSTNER, U; WITTMANN, G. T. W. 1981. Metal Pollution in the Aquatic Environment. 2ed. Berlin. Springer-Verlag. 486 p.
- FRANCIONI, E.L., WAGENER, A. DE L.R., CAMPOS, R.C., 2004. Evaluation of *Perna perna* (Linne´ 1758) as a tool to monitoring trace metal contamination in tropical estuaries and coastal waters. Journal of the Brazilian Chemical Society 15, 103–110.
- FRANCIONI, E.L., WAGENER, A. DE L.R., SCOFIEL, A. L., DEPLEDGE, M. H., CAVALIER, B., 2007. Evaluation of the mussel *Perna perna* as a biomonitor of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and effects. Marine Pollution Bulletin 54, 329–338.
- FRANCIONI, E.L., WAGENER, A. DE L.R., SCOFIELD, A., CAVALIER, B., 2005. Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbon in *Perna perna* (Guanabara Bay, Brazil). Environmental Forensics 6, 361–370.
- GARCIA, C.; HERNANDE, T; COSTA, F. The influence composting and maturation processes on the heavy-metal extractability from some organic wastes. Biological Wastes, v.31, p. 291-230, 1990. In: MACÊDO, J. A B. 2002. Introdução à Química Ambiental- Juiz de Fora - MG. 1ed. 487p.
- GOLDBERG, E.D. The mussel watch. A first step in global marine monitoring. Marine Pollution Bulletin, v.6, n7, 1975.
- GOOGLE EARTH, 2013.
- GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. Resolução do Conselho Estadual de Recursos Hídricos n 107 de 22 de maio de 2013. Aprova nova definição das regiões hidrográficas do estado do Rio de Janeiro e revoga a resolução CERHI n° 18 de 08 de novembro de 2006.
- HARDIMAN, S. AND PEARSON, B.: 1995, Mar. Pollut. Bull. 30, 563.
- HECHT, S.S.; LOY, M.; HOFFMAN, D. 1976. On the structure and carcinogenicity of the methylchrysenes. In: FREUDENTHAL, R.I. & JONES, P.W. Carcinogenesis, vol.1. Raven Press, New York, p 325-340.

- HEMELRAAD, J; HERWIG, H.J. 1988. Cadmium kinetics in freshwater clams. IV. Histochemical localization of cadmium in *Anodonta cygnea* and *Anodonta anatina* exposed to cadmium chloride. *Arch Environmental Contaminants Toxicology*. 17:337-343. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microsc Res Techniq*. 56: 358-392.
- HERBES, S.E; SCHWALL, L.R. 1978. Microbial transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in pristine and petroleum contaminated sediments. *Applied Environment Microbial*, 35:306-316.
- HENRIQUES, M.B. Resistência do mexilhão perna perna provenientes de bancos naturais da baixada santista, a variação de temperatura, salinidade, tempo de exposição ao ar e determinação da incidência de parasitismo. 2004. 103p. Tese Doutorado. Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, 2004.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>. Acesso em Março 2012.
- JAFFÉ, R., 1991. Fate of hydrophobic organic pollutants in the aquatic environment: a review. *Environmental Pollution* 69, 237–257.
- KEHRIG, H.A.; COSTA, M.; MALM, O. Estudo da contaminação por metais pesados em peixes e mexilhão da baía de Guanabara - Rio de Janeiro. *Tropical Oceanography Online*. Recife, v. 35, n. 1, p. 32-50, 2007.
- KENNISH, J.M.: 1997, *Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution*, CRC Press, New York, 524 pp.
- KENNLICUTT, M.C., WADE, T.L., PRESLEY, B.J., REQUEJO, A.G., BROOKS, J.M., DENOUX, G.J., 1994. Sediment Contaminants in Casco Bay, Maine: Inventories, Sources, and Potential for Biological Impact. *Environmental Science & Technology*, Vol. 28, No. 1.
- KRAUSS, M.; WILCKE, W.; CHRISTOPHER, M.; ADELMAR, G. B.; MARCOS, V.B.G. & WULF, A. 2005. Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest environment. *Environmental Pollution*, 135: 143–154.

- LAYBAUER, L. 1995. Análise de transferência de Metais Pesados em águas e sedimentos fluviais na região das Minas de Camaquã, R.S.- Dissertação de mestrado, curso de Pós-Graduação em Geociências da UFRGS, Porto Alegre, R. S. 164p.
- LAW, R.J., BISCAYA, J.L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) – Problems and progress in sampling, analysis and interpretation. Mar. Pollut. Bull., 29: 235-241, 1994.
- LOBEL, P. B. et al. A universal method for quantifying and comparing the residual variability of element concentrations in biological tissues using 25 elements in the mussel *Mytilus edulis* as a model. Marine Biology, v.102, n.4m p. 513-518, 1989.
- LOWE, D.M.; MOORE, M.N. 1979. The cytochemical distributions of zinc (Zn II) and iron (Fe III) in the common mussel, *Mytilus edulis*, and their relationship with lysosomes. Journal of Marine Biology Association UK 59:851–858. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. Micros Res Techniq. 56: 358-392.
- MACÊDO, J. A B. 2002. Introdução à Química Ambiental- Juiz de Fora - MG. 1ed. 487p.
- MAGALHÃES, A.R.M., Teor de Proteínas do Mexilhão *Perna perna* (Linné, 1758) (Mollusca, Bivalvia), em função do ciclo sexual. São Paulo – USP. Dissertação de Mestrado. Departamento de Fisiologia Geral, Instituto de Biociências. 117p, 1985.
- MAGI, E., BIANCO, R., IANNI, C., DI CARRO, M., 2002. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Adriatic Sea. Environmental Pollution 119, 91–98.
- MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. Micros Res Techniq. 56: 358-392.
- MARIGOMEZ, J.A; CAJARAVILLE, M.P; ÂNGULO, E. 1990. Celular distribution of cadmium in the common winkle *Littorina littorea* (L) determined by X-ray microprobe analysis and histochemistry. Histochemistry, 94: 191-199.

- MARINÉ, G.F. Detecção de ácido ocaído em cultivo de mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) e identificação do fitoplâncton potencialmente produtor, em Maciéis, Angra dos Reis, RJ. Dissertação de Mestrado – Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica 2007.
- MAROTTA, H., DUARTE, C.M., MEIRELLES-PEREIRA, F., BENTO, L., ESTEVES, F.A., ENRICH-PRAST, A. (2010). Long-Term CO₂ Variability in Two Shallow Tropical Lakes Experiencing Episodic Eutrophication and Acidification Events. *Ecosystems*, 13: 382-392.
- MARTOJA, M.; BALLAN-DUFRANC, A.I.S.C.; JEANTET, A.Y.; TRUCHET, M.; COULON, J. 1988. Influence de la composition chimique de l'environnement sur le bivalve *Abra alba*. E'tude comparative d'animaux re'colte's dans des milieux naturels et d'animaux contaminate's experimentalement par un effluent industriel. *Ann Inst Oceanogr Paris* 64:1-24. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq.* 56: 358-392.
- MENICONI, M.F.G., BARBANTI, S.M., 2006. Case study: evaluation of hydrocarbon sources in Guanabara Bay, Brazil. In: Wang, Z., Stout, S.A. (Eds.), *Oil spill environmental forensics: fingerprinting and source identification*. Elsevier, Amsterdam, pp. 505-536.
- MEYER, P.A. & ISHIWATARI, R. 1993. Lacustrine organic geochemistry – an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry*, 20: 867-900.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (1977). Decreto nº 55871 de 26 de março de 1965. Legislação Federal do Setor de Saúde, Editora Brasília, Consultoria Jurídica, Vol. 2, 498 – 545 pp.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (1998). Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (2004). Portaria nº 518 de 25 de março de 2004.
- MOLISANI, M. M.; ESTEVES F. A.; LACERDA, L. D.; REZENDE C. E. R., 2013. Emissões naturais e antrópicas de nitrogênio, fósforo e metais para a bacia do Rio Macaé (Macaé, RJ, Brasil) sob influência das atividades de exploração de petróleo e gás na bacia de Campos. *Quim. Nova*, v. 36, n. 1, p. 27-33, 2013.

- MOLISANI, M.M.; COSTA, R.N.; CUNHA, P.; REZENDE, C.E.; FERREIRA, M.I.P.; ESTEVES, S.A. (2012). Acute Toxicity Bioassay with the Amphipod, *Grandidierella bonnieroides* S. After Exposure to Sediments from an Urban Estuary (Macaé River Estuary, RJ, Brazil). *Bull Environ Contam Toxicol* 90:79–84.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1985. Oil in the Sea. Inputs, Fates and Effects. National Academy Press, Washington, D.C. 601 pp.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. COMMITTEE ON OIL IN THE SEA: INPUTS,F.: EFFECTS. Oil in the sea III: inputs, fates and effects: National Academy Press. Elsevier 2003.
- NEFF, J.M. 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. Sources, Fates and Biological Effects. Applied Science Publishers, England. 262 pp.
- NETTO, A.D.P.; DIAS, J.C.M.; ARBILLA, G.; OLIVEIRA, L.F. & BAREK, J. 2000. Avaliação da contaminação humana por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados nitratos: Uma revisão metodológica, *Química Nova*, 23(6): 765-773.
- NIST 2976 – STANDARD REFERENCE MATERIAL - Mussel Tissue (Trace Elements & Methylmercury) Freeze-dried.
- NORDSIECK, F. Die Europäischen Muresmuscheln (Bivalvia). Stuttgart, Gutav Fischer, p.256, 1969.
- O'NEILL, P. Environmental Chemistry, Third Edition. Blackie Academic & Professional, London, UK, 1998 – 284 pp.
- OSPAR. A greed ecotoxicological assessment criteria for trace metals, PCBs, PAHs, TBT and some organochlorine pesticides: Oslo and Paris Conventions for the Prevention of Marine Pollution, 1997.
- PAGE, D.S.; BOEHM, P.D.; DOUGLAS, G.S.; BENCE, A.E.; BURNS,W.A. 1996. The Natural Petroleum Hydrocarbon Background in Subtidal Sediments of Prince William Sound, Alaska, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 15, No 8, pp 1266-1281.

- PHILLIPS, D. J. H. 1995. The fate chemistries and environmental fates of trace metals and organochlorines in aquatic ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*. 31: 193-200.
- PHILLIPS, D. J. H.; THOMPSON, G. B.; GABUJI, K. M.; H.O, C.T. Trace metals of toxicological significance to man in Hong-Kong seafood. *Environmental Pollution*, v. 3, p. 27-45, 1982.
- PINHEIRO, M.R.C.; SILVA, F.E.; PRIOSTE, M.A.; FERREIRA, M.I.P. Avaliação da qualidade da água na bacia hidrográfica do rio macaé e aplicação do índice de qualidade de água. In: II Simpósio de Recursos Hídricos Sul-Sudeste, 2008, Rio de Janeiro.
- PIVELI, R.P.; KATO, M.T. Ferro, Manganês e Metais Pesados em Águas. Qualidade das águas e poluição: aspectos físicos-químicos. São Paulo: ABES, 2005. p. 173-187.
- REBELO, M. D. F., DO AMARAL, M. C. R. & CHRITSTIAN PFEIFFER, W. 2003. High Zn and Cd accumulation in the oyster *Crassostrea rhizophorae*, and its relevance as a sentinel species. *Mar Pollut Bull*. 46: 1354-1358.
- RECIO, A.; MARIGÓMEZ, I.; ÂNGULO, E.; MOYA, J. 1988. Zinc treatment of the digestive gland of the slug *Arion ater* L. 1. Cellular distribution of zinc and calcium. *Bull Environ Contam Toxicol* 41:858–864. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq*. 56: 358-392.
- RESGALA Jr., C. Weber, L.I; Conceição, M.B., 2008. O Mexilhão *Perna perna* (L.): Biologia, Ecologia e Aplicações. Editora Interciência. Rio de Janeiro – Brasil, 324 pp.
- REZENDE C. E. & LACERDA, L.D. 1986. Metais pesados nos mexilhões (*Perna perna* L.) no litoral do Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Brasil. Biol.* 46 (1): 239-247.
- SALOMONS, W. & FORSTNER, U. 1984. *Metals in the Hydrocycle*. 2º Edição: Springer-Vergala, Berlin, 486p.
- SAUER, T.C.; BROWN, J.S.; BOHEM, P.D.; AURAND, D.V.; MICHEL, J.; HAYES, M.O. 1993. Hydrocarbon source identification and weathering characterization of intertidal and subtidal sediments along Saudi Arabian Coast after the gulf war oil spill. *Marine Pollution Bulletin*, 27:117-134.

- SCHOETTLI, G, SEILER, HG. 1970. Uptake and localization of radioactive zinc in the visceral complex of the land pulmonate *Arion rufus*. *Experientia* 26:1212–1213. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq.* 56: 358-392.
- SKU'LSKY, I.A.; BUROVINA, I.V.; VASILYEVA, V.F.; LUKYANOVA, O.N.; NIKIFOROV, V.A.; SYASINA, I.G. 1989. Uptake and microlocalization of cadmium in marine bivalve mollusc tissues. *Comp Biochem Physiol* 92C:349–353. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq.* 56: 358-392.
- SOCLO, H.H., GARRIGUES, P.H., EWALD, M., 1999. Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin* 40, 387–396.
- SOTO, M; CARAJAVILLE, M.P.; ANGULO, E.; MARIGÓMEZ, I. 1996. Autometallographic localization of protein-bound copper and zinc in the common winkle, *Littorina littorea*: a light microscopical study. *Histochemistry Journal*. 28: 1-13. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq.* 56: 358-392.
- SOTO, M; QUINCOSES, I; LEKUBE, X; MARIGÓMEZ, I. 1998. Autometallographed metal content in digestive cells of winkles: a cost-effective screening tool to monitor Cu and Zn pollution. *Aquatic Toxicological*, 40: 123-140. In: MARIGOMEZ, I., SOTO, M., CAJARAVILLE, M. P., ANGULO, E. & GIAMBERINI, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techniq.* 56: 358-392.
- SOUZA, K.V.A. 2010. Cronologia de um passivo: a contaminação por chumbo. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Centro de Tecnologia Mineral.
- SOUZA, R.C.C.L.; FERNANDES, F.C. & SILVA, E.P. Distribuição atual do mexilhão *Perna perna* no mundo: Um caso recente de bioinvasão. Em: *Água de Lastro e Bioinvasão*. SILVA, J.S.V.; SOUZA, R.C.C.L. Editora Interciência, Rio de Janeiro, 12:157-172, 2004.
- STANDAR REFERENCE MATERIALS – SRM 2977. Mussel Tissue (Organic Contaminants and Trace Elements).

- SUKASEM, P. AND TABUCANON, M. S.: 1993, Monitoring heavy metals in the Gulf of Thailand using mussel watch approach. *Sci. Total Environ.* 139/140, 297.
- TAM, N.F.Y; KE, L.; WANG, X.H.; WONG, Y.S. 2001. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environmental Pollution.* 114: 255-263.
- TANIGUCHI, S. 2001. Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos e organoclorados em diferentes compartimentos do ambiente marinho do estado do Rio de Janeiro. Tese de Doutorado. Instituto de Química/Universidade de São Paulo, p 161.
- TANIGUCHI, S.; MONTONE, R.C.; BÍCEGO, M.C.; WEBER, R.R. 2008. Indicador de Poluição por Hidrocarbonetos e Organoclorados. In: RESGALA Jr., C. Weber, L.I; Conceição, M.B., 2008. *O Mexilhão Perna perna (L.): Biologia, Ecologia e Aplicações.* Editora Interciência. Rio de Janeiro – Brasil, 324 pp.
- UOBC – Comunicação e Segurança de Informações / Petrobrás – Petróleo Brasileiro S/A (2012). Em: Anuário de Macaé. Disponível em <http://www.macaerj.gov.br/anuario/conteudo/titulo/atividade-portuaria>. Acesso em 20/03/2013.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). Contaminant monitoring programmes using marine organisms: quality assurance and good laboratory practice. Reference methods for marine pollution studies n° 20, 1991.
- VASQUEZ, G.F., SANCHEZ, G.M., VIRENDER, K.S., 1993. Trace Metals in the Oyster *Crasostrea virginica* of the Terminos Lagoon, Campeche, Mexico. *Marine Pollution Bulletin* 26, 398–399.
- VENKATESAN, M.I, 1988. Occurrence and Possible Sources of Perylene in Marine Sediments-a Review. *Marine Chemistry*, 25 (1988) 1-27.
- WANG, Z.; FINGAS, M.; BLENKINSOPP, S.; SERGY, G.; LANDRIALT, M.; SIGOUIN, L. Study of the 25-year-old Npisi oil spill: Persistence of oil residues and comparison between surface and subsurface sediments. *Environ Sci Technol* 1998.

WANG, Z.; FINGAS, M.; PAGE, D.S. Oil Spill Identification. *Journal of Chromatography A*, 843, 369 – 411, 1999.

WHO. IPCS Environmental Health Criteria 155. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. Geneva, World Health Organization, 71 p., 1993.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1983. Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, chemical environmental and experimental data, 32. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Pp 477.

WILCKE, W.; AMELUNG, W.; MARTIUS, C.; GARCIA, M.V.B. & ZECH, W. 2000. Biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Amazonia forest. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 163: 27-30.

YOSHIMINE, R.V.; CARREIRA, R.S.; SCOFIELD, A.L.; WAGENER, A.L.R. Regional assessment of PAHs contamination in SE Brazil using brown mussels (*Perna perna* Linnaeus 1758). *Marine Pollution Bulletin*, 2012.

ANEXO A Valores para Limites de Detecção (LD) e Limites de Quantificação (LQ)

Amostra	LD	LQ
NAF	0,05	0,65
1ME_NAF	0,09	0,65
2ME_NAF	0,09	0,65
C2_NAF	0,09	0,65
C3_NAF	0,09	0,65
C4_NAF	0,09	0,65
ACENAFTY	0,1	0,65
ACE	0,05	0,65
FLUOR	0,09	0,65
C1_FLUOR	0,09	0,65
C2_FLUOR	0,09	0,65
C3_FLUOR	0,09	0,65
DBZTIOF	0,16	0,65
C1_DBZTIOF	0,16	0,65
C2_DBZTIOF	0,16	0,65
C3_DBZTIOF	0,16	0,65
FEN	0,14	0,65
C1_FEN	0,14	0,65
C2_FEN	0,14	0,65
C3_FEN	0,14	0,65
C4_FEN	0,14	0,65
ANT	0,1	0,65
FLUORAN	0,05	0,65
PIR	0,16	0,65
C1_PIR	0,16	0,65
C2_PIR	0,16	0,65
Bz(a)ANT	0,24	0,65
CRIS	0,24	0,65
C1_CRIS	0,24	0,65
C2_CRIS	0,24	0,65
Bz(b)FLUOR	0,16	0,65
Bz(k)FLUOR	0,2	0,65
Bz(e)PIR	0,1	0,65
Bz(a)PIR	0,13	0,65
Perileno	0,2	0,65
Indeno(123-cd)PIR	0,16	0,65
DBz(ah)ANT	0,13	0,65
Bz(ghi)PERIL	0,12	0,65