

UNIVERSIDADE SANTA CECILIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA AMBIENTAL

THAÍS MONSORES SILVEIRA INTROVIGNE

**Estudo ecotoxicológico da APA Costa dos Corais
(Alagoas) após 2 anos do derramamento de óleo de
2019.**

SANTOS/SP

2024

THAÍS MONSORES SILVEIRA INTROVIGNE

**Estudo ecotoxicológico da APA Costa dos Corais
(Alagoas) após 2 anos do derramamento de óleo de
2019.**

Dissertação apresentada à
Universidade Santa Cecília como
parte dos requisitos para obtenção de
Título de Mestre no Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia
Ambiental sob a orientação do Prof.
Dr. Camilo Dias Seabra Pereira

SANTOS/SP

2024

571.95
l48e

Introvigne, Thaís Monsores Silveira.

Estudo ecotoxicológico da APA Costa dos Corais (Alagoas) após 2 anos do derramamento de óleo de 2019. / Thaís Monsores Silveira Introvigne.
2024.
52 f.

Orientador: Dr. Camilo Dias Seabra Pereira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Santa Cecília, Programa de pós-graduação em Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental, Santos, SP, 2024.

1. Costa Nordeste brasileira. 2. Área de Proteção Ambiental. 3. Petróleo. 4. Bioacumulação . 5. Toxicidade. I. Pereira, Camilo Dias Seabra. II. Estudo ecotoxicológico da APA Costa dos Corais (Alagoas) após 2 anos do derramamento de óleo de 2019..

Elaborada via formulário eletrônico, desenvolvido pelo SIBi Unisantia, com dados informados pelo autor(a). Bibliotecário responsável: Ana Maria Racioppi Silveira - CRB/8 - 1890

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Simone Monsores e Wellington Introvigne, por sempre terem sido meus maiores incentivadores e apoiadores. Por terem me ensinado que educação é a base de todas as coisas, que conhecimento nunca é demais, e, por isso, sempre terem feito de tudo para me proporcionar o melhor estudo dentro de todas as dificuldades da vida. Amo vocês. Serei eternamente grata por tudo. Se hoje cheguei aonde estou, é graças à vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por me acompanhar nessa caminhada e ter me mostrado a cada momento, que sou capaz. Agradeço aos meus pais Simone Monsores e Wellington Introvigne por sempre me incentivarem nos estudos, por terem me ensinado que conhecimento nunca é demais e não medirem esforços para me proporcionar a melhor educação possível, que em meio a tantas dificuldades sempre fizeram o possível e o impossível para termos (eu e minhas irmãs, Thamires Monsores e Thainá Monsores) o melhor ensino. Além disso, agradeço imensamente por sempre me apoiarem e acompanharem nessa jornada, mesmo de longe fisicamente. Sempre serão minha base. Agradeço à minha avó Soeli Monsores, Irene Introvigne e toda a minha família por todo carinho e apoio. Agradeço ao meu namorado, Thiago Mendes, por ter me incentivado diariamente, por compreender meus momentos de deixar de aproveitar um final de semana para poder estudar ou passar um sábado inteiro na faculdade, agradeço por estar comigo me apoiando e mostrando que sou capaz. Agradeço ao meu orientador Camilo Seabra por todo suporte e oportunidade de realizar minha pesquisa na Universidade Federal do Paraná (UFPR), tendo a oportunidade de conhecer a instituição de ensino de outro estado, e, além do mais, envolvendo outros pesquisadores incríveis em meu estudo onde pude absorver muito conhecimento e serei eternamente grata. Agradeço ao professor Marco Tadeu Grassi, da UFPR, o qual me recebeu de braços abertos dentro da universidade. Agradeço ao professor Rafael Garrett Dolatto por instruir cada passo da realização da minha pesquisa na UFPR, ter estado ao meu lado diariamente, a cada etapa, dentro do laboratório por mais de 8h por dia – incluindo sábado – entre muito cansaço, corrida contra o tempo, frustração quando algo dava errado, porém muita dedicação e vibração a cada etapa que conseguimos concluir com sucesso. Agradeço minha amiga Luiza Lelles por abrir as portas da sua casa em Curitiba nesse tempo de pesquisa, onde me viu sentir todas as emoções possíveis dentro de 2 semanas – ansiedade, medo, estresse, choro, vontade de desistir, vontade de ir embora, felicidade, empolgação - e esteve ao meu lado com um abraço e uma palavra amiga. Agradeço aos meus amigos por estarem ao meu lado e agradeço aos amigos que fiz e aos que me aproximei durante esses 2 anos de mestrado, os quais se tornaram especiais e essenciais na minha vida. Agradeço ao professor Luís Felipe Duarte e professora Paloma Gusso, que além de grandes profissionais, sabem acolher cada aluno. Sempre gentis com as palavras nos momentos difíceis. Relação que ia muito além de somente profissional, mas, também, de amizade, agradeço por tamanha humanidade e disposição em ajudar a hora que for. Agradeço a todos os professores que de alguma maneira contribuíram para meu crescimento profissional e na minha formação como mestre. Meus sinceros muito obrigada a todos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. O projeto foi financiado pelo Edital CAPES ENTRE MARES

EPIGRAFE

*“Nunca o homem inventará nada mais simples
nem mais belo do que uma manifestação da natureza.*

*Dada a causa, a natureza produz o efeito no modo
mais breve em que pode ser produzido.” (Leonardo da Vinci)*

RESUMO

A contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) da água, sedimento e recifes de corais na região nordeste brasileira após o derramamento de petróleo bruto em 2019 gerou preocupações em relação aos relevantes impactos ecológico e social. Os HPAs são compostos tóxicos que tem efeitos prejudiciais ao ecossistema marinho podendo causar graves consequências na saúde e sobrevivência dos corais e alteração na composição do sedimento perturbando a comunidade bentônica. Tendo em vista que é necessário compreender os efeitos desse desastre para aprimorar medidas de mitigação e prevenção de tragédias futuras e saber como atuar em derramamentos de óleo no mar, este estudo teve como objetivo averiguar o nível de contaminação na região da APA Costa dos Corais (Alagoas) após 2 anos do evento através de análises químicas e ecotoxicológicas. Essas amostras foram analisadas por meio de cromatografia gasosa (HPAs) e ensaios de toxicidade crônica. Como resultado, foi observado um maior nível de contaminação por HPAs de fontes mistas (pirolítica e petrogênica) e toxicidade mais acentuada em áreas estuarinas, indicando fontes recentes de contaminação e risco para a biota aquática local.

Palavras-chave: Costa Nordeste brasileira; Área de Proteção Ambiental; Petróleo; Bioacumulação; Toxicidade.

ABSTRACT

The contamination of water, sediment, and coral reefs by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the northeastern region of Brazil following the crude oil spill in 2019 has raised significant concerns regarding its ecological and social impacts. PAHs are toxic compounds that have detrimental effects on marine ecosystems, potentially leading to severe consequences for the health and survival of corals and altering sediment composition, thereby disrupting benthic communities. Understanding the effects of this disaster is crucial for improving mitigation measures and preventing future tragedies, as well as for informing responses to marine oil spills. This study aimed to assess the level of contamination in the Costa dos Corais Environmental Protection Area (Alagoas) two years after the event, using chemical and ecotoxicological analyses. Samples were analyzed through gas chromatography (PAHs) and chronic toxicity assays. The results revealed higher levels of contamination by PAHs from mixed sources (pyrolytic and petrogenic) and increased toxicity in estuarine areas, indicating recent sources of contamination and posing a risk to local aquatic biota.

Keywords: Brazilian Northeast Coast; Environmental Protection area; Petroleum; Bioaccumulation; Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pontos de coleta na campanha de 2021.	30
Figura 2 - Liofilização de amostras de sedimento.....	33
Figura 3 - Evaporador rotativo à vácuo.	34
Figura 4 - Coluna cromatográfica de vidro recheada de baixo pra cima com lã de vidro, SiO ₂ , Al ₂ O ₃ , Na ₂ SO ₃ , Cu e lã de vidro.....	34
Figura 5 - Resultados do ensaio de desenvolvimento embrionário com ouriço do mar. * = diferença significativa em relação ao Controle (p<0,05).....	50
Figura 6 - Resultados do ensaio de fecundidade com Nitocra sp. * = diferença significativa em relação ao Controle (p<0,05).....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Pontos de coleta das amostras de sedimento.....	30
Tabela 2 - Área de coleta das amostras da espécie de coral <i>Mussismilia Harttii</i>	31
Tabela 3- Compostos e parâmetros das curvas analíticas.....	35
Tabela 4 - Compostos, tempos de retenção e razões m/z de quantificação e confirmação utilizados no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM)	36
Tabela 5 - Concentração de HPAs determinada nas amostras de corais da espécie <i>Mussismilia hartii</i>	42
Tabela 6 - Caracterização do sedimento quanto à granulometria e matéria orgânica.	44
Tabela 7 - Concentração de HPAs determinadas nas amostras de sedimentos.	46
Tabela 1 - Valores limite de HPA´s utilizados como referência em normas nacionais e internacionais sobre a qualidade dos sedimentos.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

ACN Acetonitrila

Al₂O₃ Alumina

ANP Agência Nacional do Petróleo

APA Área de Proteção Ambiental

CNPE Conselho Nacional de Política Energética

Cu Cobre

DCM Diclorometano

GC-MS Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massas

HPA Hidrocarboneto Policíclico Aromático

HX Hexano

IBAMA Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

LOD Limites de Detecção

LOQ Limites de Quantificação

MeOH Metanol

MgO₃Si Florisil

Na₂SO₄ Sulfato de Sódio

PTFE Politetrafluoroetileno

QA/QC Garantia de Controle e Qualidade

SIM Monitoramento Seletivo de Íons

SiO₂ Sílica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	24
2. OBJETIVO	29
2.1 Objetivo geral	29
2.2 Objetivos Específicos.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Área de Estudo.....	29
3.2 Análises químicas	31
3.2.1 Padrões analíticos, solventes e reagentes	31
3.2.2 Descontaminação de vidrarias e materiais	32
3.2.3 Determinação HPAs em corais	32
3.2.4 Determinação HPAs em sedimentos marinhos (16 amostras)	33
3.2.5 Curvas analíticas instrumentais.....	35
3.2.6 Determinações cromatográficas por GC-MS	36
3.2.7 Controle e garantia de qualidade	37
3.2.8 Caracterização do sedimento.....	38
3.2.8.1 Granulometria	38
3.2.8.2 Material Orgânico.....	39
3.3 Ensaio ecotoxicológicos.....	39
3.3.1 Ouriço do mar <i>Echinometra lucunter</i> (ECHINODERMATA, ECHINOIDEA)	39
3.3.2 Nitokra sp.	40
4. Resultados e Discussão	42
5. Conclusão	52

1. INTRODUÇÃO

Formado por uma combinação de moléculas de carbono e hidrogênio associado a outros compostos (enxofre, nitrogênio e oxigênio), o petróleo possui uma cor negra, textura oleosa, é inflamável e menos denso que a água (CLARK E BROWN, 1970; POSTHUMA, 1977). Originado a partir de restos de animais, vegetais e outros seres vivos há milhões de anos atrás, e, sendo um combustível fóssil, após seu processo de refinamento, ele dá origem a diferentes produtos, os quais são utilizados no cotidiano (SPEERS e WHITEHEAD, 1969).

O processo de refinamento envolve atividades que resultam em um grande índice de poluição. Durante o processo, é consumida água e energia, os quais dão origem à despejos de águas contaminadas, água de refrigeração (ROGOWSKA; NAMIEŚNIK, 2010; SINGH et al., 2015), resíduos sólidos em forma de lama, e, conseqüentemente, liberando gases poluidores na atmosfera (MARIANO, 2001).

A exploração de petróleo pode ocasionar vazamentos que afeta, de forma alarmante, o meio ambiente trazendo grandes prejuízos, como a interferência na qualidade da água, ar, solo e qualidade de vida dos seres vivos. Sendo assim, após inúmeros casos de despejos de óleo por navios no mar, a poluição marítima começou a ser vista com maior atenção, e assim foi criada a Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição do Mar por Óleo (OILPOL), a qual definiu zonas de descarte proibido, fazendo com que as empresas definam os locais adequados (IMO, 2019).

Além disso, foram criados inúmeros mecanismos que regularizam a indústria do petróleo ambientalmente, tais como a Convenção Internacional sobre Preparação, Resposta e Cooperação para Poluição por Óleo (OPRC 90) (IMO, 2019), Política Nacional do Meio Ambiente (Lei nº 6.939/81, art. 9, IV), Lei do Petróleo (Lei nº 9.479/97), auxílio do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Agência Nacional do Petróleo (ANP), Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) (CHAFFEL, 2002) e Lei do Óleo (Lei nº 9.966/00) (BRASIL, 2000).

Desastres ambientais envolvendo derramamento de óleo vem sendo cada vez mais estudados, tendo em vista a grande ocorrência pelo mundo. Dentre os principais acontecimentos estão os desastres da Exxon Valdez, no Alaska em 1989 (PALINKAS et al., 2004; CARLS et al., 2016; SHORT, 2017), o derramamento do Golfo de Taranto, na Itália em 2012 (CRISAFI et al., 2016), a explosão da plataforma Deepwater Horizon, no Golfo do México em 2010 (JERNELÖV, 2010; ROTKIN-ELLMAN et al., 2012; BUCKINGHAM-HOWES et al., 2019; HUETTEL et al., 2018; PEREZ-UMPHREY et al., 2018) e o derramamento de óleo no Nordeste brasileiro em 2019 pelo navio grego Bouboulina (AGÊNCIA BRASIL, 2021).

Considerado um dos maiores desastres ambientais por derramamento de óleo da história do Brasil, as primeiras manchas de óleo foram registradas no litoral nordestino brasileiro em 30 de agosto de 2019, e, em seguida, foram localizadas em mais de 877 lugares diferentes e em 127 municípios de 11 estados (ARAÚJO, 2020). Não só os organismos marinhos sofrem com essa tragédia, mas sim, o ecossistema num todo, comprometendo também a saúde física e a sustentabilidade financeira das famílias dependentes da pesca e do turismo local, os quais arriscaram sua própria saúde sem devidas orientações por parte do governo (DE OLIVEIRA SOARES et al., 2020).

Dentre os locais atingidos pelo óleo, 40% estavam localizados em áreas de preservação, incluindo 18 áreas de Proteção Ambiental (APA) (DE OLIVEIRA ESTEVO et al. 2021) sendo uma delas a APA Costa dos Corais, que se localiza entre os estados de Pernambuco e Alagoas. Sendo uma região conhecida pela sua segunda maior barreira de corais em extensão do mundo e por sua grande biodiversidade, ela foi uma das mais atingidas durante o derramamento de petróleo que atingiu o litoral nordestino (DE OLIVEIRA SOARES et al., 2020).

A APA Costa dos Corais é rica em biodiversidade e com isso, tem o intuito de proteger os ambientes recifais e manguezais, manter a conectividade entre os ecossistemas marinhos e estuarinos, conservar espécies ameaçadas e manter a identidade cultural preservando o turismo e a pesca artesanal (ICMBIO). Além disso, a APA possui uma grande concentração da espécie de

coral *Mussismilia Harttii* sendo desconhecida outra área com tamanha concentração desse espécime, e, por isso, foi a primeira área da APA a ser fechada para preservação (ICMBIO).

Por serem organismos sedentários, tolerantes às contaminações ambientais e fáceis de amostrar, os corais são utilizados como biomonitores devido às suas respostas simultâneas às diferentes agentes estressantes tendo a capacidade de refletir o nível de degradação e contaminação de um ecossistema (PHILLIPS, 1994). Além disso, os corais oferecem uma vantagem adicional como indicador biológico devido à forma como respondem às mudanças climáticas por serem espécies sensíveis às variações de temperatura (PHILLIPS, 1994).

Além de seu valor como biomonitores, os corais desempenham um papel fundamental tanto no equilíbrio ecológico quanto na economia global. Ecologicamente, os recifes de corais proporcionam habitat e refúgio para uma infinidade de espécies marinhas, facilitam o fluxo de energia e nutrientes nas cadeias alimentares marinhas, sendo vitais para a produtividade oceânica, pois sustentam inúmeras espécies de peixes e invertebrados que, por sua vez, são essenciais para o funcionamento saudável dos ecossistemas marinhos (JACKSON, 1991). Do ponto de vista econômico, os corais têm um impacto direto nas comunidades humanas, especialmente nas áreas costeiras, onde as atividades pesqueiras e o turismo dependem da saúde desses ecossistemas (CHARLES, 2005).

Sendo a APA considerada uma região estratégica de grande importância ecológica e econômica, é necessária a compreensão dos impactos gerados para o desenvolvimento de estratégias de prevenção, mitigação, monitoramento ambiental e avaliação dos possíveis riscos à saúde humana provenientes do consumo de peixes contaminados, inalação e contato dérmico.

A exposição de animais marinhos ao óleo pode influenciar em seus processos metabólicos (VANDERMEULEN e CAPUZZO, 1983), afetando diretamente o seu crescimento (VANDERMEULEN e CAPUZZO, 1983) e até mesmo a reprodução da espécie (VANDERMEULEN e CAPUZZO, 1983), pois o petróleo cru contém metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

(HPAs), benzeno, tolueno e xilenos (ARAÚJO, 2020). Os HPAs são emitidos por fontes de combustão e estão presentes na atmosfera, que após transformação química são considerados substâncias altamente tóxicas e cancerígenas (benzo(a)pireno, benzofluorantenos, indeno (1,2,3-cd) pireno e dibenzo(a,h)antraceno) (WISHNOK, 1992; SELKIRK).

A ecotoxicologia é o ramo da ciência que estuda as contaminações no ambiente por poluentes naturais ou sintéticos proveniente da atividade humana sendo essencial no monitoramento ambiental baseada nas respostas de organismos a estresses químicos (RAMADE, 1977). Testes ecotoxicológicos são muito recomendados para além de monitoramento, avaliação da qualidade da água e sedimento, toxicidade de substâncias químicas isoladas ou em combinação e efluentes, sendo a primeira iniciativa metodológica criada em 1975 envolvendo peixes (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

As espécies *Echinometra lucunter* (um tipo de ouriço-do-mar) e *Nitokra sp.* (um gênero de copépodes marinhos) são frequentemente utilizadas em estudos de ecotoxicologia devido à sua sensibilidade a contaminantes ambientais e sua relevância em ecossistemas marinhos (DUARTE, 2019). A *Echinometra lucunter* é um organismo que quando exposto a vários poluentes, como metais pesados e compostos orgânicos, se torna um excelente bioindicador para avaliar os efeitos tóxicos desses contaminantes (VEZZONE et al, 2019). Sua utilização em testes de toxicidade envolve a exposição a diferentes concentrações de substâncias químicas, avaliando parâmetros como mortalidade, comportamento e efeitos subletais, como alterações na taxa de alimentação e crescimento (VEZZONE et al, 2019).

Por outro lado, *Nitokra sp.*, como copépode planctônico, é utilizado em ensaios de toxicidade aguda e crônica, especialmente para avaliar a toxicidade de poluentes em águas e sedimentos (CAPPARELLI et al, 2020). Sua rápida reprodução e ampla distribuição no ambiente marinho tornam essa espécie um modelo ideal para medir os impactos de substâncias químicas no nível trófico primário e na dinâmica de ecossistemas marinhos (CAPPARELLI et al, 2020). Ambos os organismos são essenciais para a ecotoxicologia marinha, ajudando

na avaliação do impacto ambiental de poluentes e na formulação de políticas de conservação e gestão ambiental.

Efeitos deletérios nos organismos estão relacionados à biodisponibilidade no ambiente e à capacidade de bioacumulação dos contaminantes. A bioacumulação em organismos marinhos é o processo pelo qual compostos químicos, incluindo aqueles provenientes de poluição por petróleo, são removidos e absorvidos da coluna d'água pelos organismos, principalmente através da ingestão de alimentos (GOBAS, 1993; FROEHNER & MACEDO, 2009). Durante esse processo, os contaminantes, como os HPAs, são retidos em níveis mais altos do que os encontrados na água circundante, resultando em concentrações acumuladas nos tecidos dos organismos.

Para que a bioacumulação ocorra, é necessário que a taxa de absorção do contaminante pelos organismos seja maior do que sua taxa de excreção (DURELL, 2006). A poluição por petróleo, ao liberar substâncias como os hidrocarbonetos, pode amplificar esse processo, uma vez que essas substâncias são altamente lipofílicas e tendem a se acumular nos organismos marinhos, afetando a saúde dos ecossistemas marinhos e das cadeias alimentares (GOBAS, 1993; FROEHNER & MACEDO, 2009).

Nesse contexto, o presente estudo pretendeu responder às perguntas: (i) Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) petrogênicos estão presentes nos recifes de corais e sedimento após 2 anos do derramamento de óleo? (ii) Há toxicidade na interface sedimento-água? A hipótese assumida frente a estudos pretéritos e características do poluente e dos ambientes atingidos, considera que após 2 anos do derramamento, ainda haverá contaminação de HPAs nos recifes de corais e sedimentos, com efeitos tóxicos à biota aquática.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

A fim de verificar a hipótese assumida, o presente estudo tem como objetivo geral avaliar a contaminação por HPAs nas amostras de corais e sedimentos, além da avaliação de toxicidade em sedimento coletados em 2021 na APA Costa dos Corais, na área do município de Japaratinga.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar o nível de contaminação por HPA nas amostras de corais da espécie *Mussismilia hartii* coletadas em 2021;
- Analisar o nível de contaminação por HPA nas amostras de sedimento estuarino e marinho coletado em 2021;
- Avaliar a toxicidade crônica em sedimento coletado em 2021.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

A APA Costa dos Corais possui cerca de 406.301,43 mil hectares e um perímetro de 570.171,93 metros. As amostras de corais e sedimento foram coletadas na porção da APA localizada no Estado de Alagoas. As coletas ocorreram por mergulho autônomo, em profundidade variando de 1,5 m a 10m.

Os pontos de coleta na campanha de 2021 foram: Gistinga, Cordões e Aiuiá, Manguaba, Boqueirão, João Martins, Salgado, Raso, Picãozinho e Japa raso na costa do município de Japaratinga/AL, conforme Figura 1.

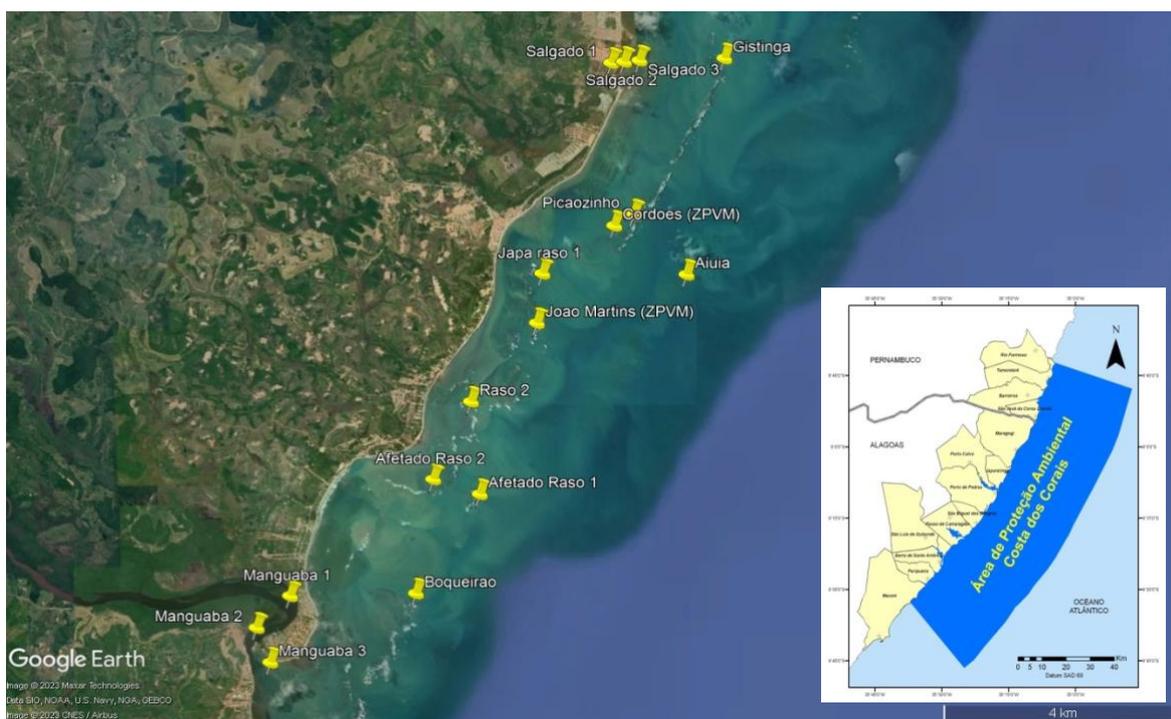


Figura 1 - Pontos de coleta na campanha de 2021.

Tabela 2 - Pontos de coleta das amostras de sedimento

Pontos sedimento	Área referente	LAT	LONG
1	Estuário salgado 1	9° 3'54.13"S	35°14'29.33"O
2	Estuário salgado 2	9° 3'53.49"S	35°14'22.37"O
3	Estuário salgado 3	9° 3'52.75"S	35°14'14.01"O
4	Gistinga	9° 3'51.52"S	35°13'27.68"O
5	Picãozinho reserva	9° 5'19.73"S	35°14'17.03"O
6	Cordões	9° 5'26.19"S	35°14'27.74"O
7	Aiua fundo	9° 5'53.79"S	35°13'48.27"O
8	Japa raso 1	9° 5'53.21"S	35°15'6.96"O
9	João Martins	9° 6'21.19"S	35°15'9.89"O
10	Japa raso 2	9° 7'5.66"S	35°15'45.87"O
11	Afetado raso 1	9° 7'57.89"S	35°15'41.07"O
12	Afetado raso 2	9° 7'49.54"S	35°16'6.45"O
13	Boquerão 1	9° 8'54.06"S	35°16'15.88"O
14	Manguaba 3	9° 9'33.12"S	35°17'35.36"O
15	Manguaba 2	9° 9'13.51"S	35°17'42.83"O
16	Manguaba 1	9° 8'55.45"S	35°17'24.50"O

Tabela 3 - Área de coleta das amostras da espécie de coral *Mussismilia Harttii*

Amostras de corais	Área referente	LAT	LONG
Coral 1	Aiuia	9° 5'53.79"S	35°13'48.27"O
Coral 2	Japa raso 1	9° 5'53.21"S	35°15'6.96"O
Coral 3	Afetado raso 1	9° 7'57.89"S	35°15'41.07"O
Coral 4	Afetado raso 2	9° 7'49.54"S	35°16'6.45"O

A espécie de coral *Mussismilia Harttii* foi escolhida por ser uma das espécies de maior abundância na APA (LABOREL, 1969) e por ser a mesma analisada no estudo de 2019 (BORGES, 2022). Os corais e sedimentos para análises químicas foram congelados imediatamente após a coleta, enquanto as amostras de sedimento para ensaios ecotoxicológicos foram refrigeradas, e assim ambos permaneceram até a execução das análises e ensaios. Foram coletadas 16 amostras de sedimento (todos os pontos) e 4 amostras de corais da espécie *Mussismilia hartii*.

3.2 Análises químicas

3.2.1 Padrões analíticos, solventes e reagentes

Todos os padrões analíticos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) foram adquiridos na empresa Merck-Sigma. Três ampolas de 1 mL (2000 mg L⁻¹) de cada padrão analítico foram empregadas para o preparo das soluções estoque: HPAs mistura de 16 compostos Nafaleno, Acenaftileno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Benzo[a]antraceno, Criseno, Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Indeno[1,2,3-cd]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno e Benzo[ghi]perileno; 5 HPAs deuterados utilizados como *surrogates* (Nafaleno-D8, Acenafteno-d10, Fenantreno-D10, Criseno-D12 e Perileno-D12) e p-terfenilo-D14 empregado como padrão interno. As três soluções estoques dos HPAs foram preparadas em concentração de 80 mg L⁻¹ em meio de hexano. Os solventes utilizados acetona, acetonitrila (ACN), diclorometano (DCM), hexano (HX) e metanol (MeOH) foram todos de alta pureza (grau HPLC) de marcas como JT Baker, Merck, PanReac ou similares. Outros reagentes utilizados foram alumina (Al₂O₃), cobre sólido em pó, Florisil® 60-100 mesh (MgO₃Si), sílica

cromatográfica (SiO_2) e sulfato de sódio (Na_2SO_4). A água utilizada nos experimentos e para descontaminação de materiais foi obtida por processo de osmose reversa (Permuton), seguida de purificação em equipamento Merck-Millipore, sendo obtida água ultrapura (resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

3.2.2 Descontaminação de vidrarias e materiais

A descontaminação dos materiais e vidrarias foi realizada mediante lavagem com Extran 2,5 % e escova, seguida por 5 enxagues com água corrente e água ultrapura. Após essa etapa os itens foram rinsados em capela com alíquotas de acetona e materiais não volumétricos secos em estufa ($105 \text{ }^\circ\text{C}$). Vidrarias volumétricas foram descontaminadas pelo mesmo procedimento, mas secas em cabine de fluxo laminar. Os materiais limpos foram armazenados em local seco e protegido de umidade e poeira.

3.2.3 Determinação HPAs em corais

O preparo das amostras de corais (**4 amostras - sendo uma colônia de cada ponto**) foi realizado mediante adaptações do trabalho de (Han et al., 2020; Wang et al., 2017). As amostras de corais foram congeladas em freezer ($-27 \text{ }^\circ\text{C}$) e liofilizados por 24 h (Liofilizador Liobras) Após seco todo o material foi macerado e uma alíquota de 0,5 g ($\pm 0,00001 \text{ g}$) foi transferida para almofariz de porcelana, juntamente com 0,5 g de florisil® ativado ($105 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 h), e 0,5 g de Na_2SO_4 seco em estufa. A essa mistura foi realizado *spike* de 20 μL dos HPAs deuterados (*surrogates*) em concentração de $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, totalizando 100 ng g^{-1} .

O material foi macerado por 3 min e a mistura foi transferida para o topo de uma coluna cromatográfica de vidro com dimensões de $400 \times 5 \text{ mm}$ recheada, de baixo para cima, com um chumaço de lã de vidro, 2,0 g de SiO_2 ativada ($105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h), 1,0 g de Al_2O_3 e 0,5 g de florisil® ativados e 0,5 g de Na_2SO_4 . A coluna foi condicionada com hexano e a amostra macerada foi transferida quantitativamente para o topo da coluna. A eluição foi realizada com 15 mL de solução de HX:DCM (3:2, v/v). O eluato foi coletado ($\sim 9 \text{ mL}$) foi evaporado em evaporador rotativo à vácuo ($60 \text{ }^\circ\text{C}$, 1500 rpm por 60 min)

(Figura 3), ressolubilizado com 300 μL de solução de p-terphenyl-D14 em concentração de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e transferido para *inserts* de vidro em vials de 1,5 mL. A determinação foi realizada por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS).

3.2.4 Determinação HPAs em sedimentos marinhos

A determinação de HPAs em sedimentos foi realizada com base em adaptações dos trabalhos de (Angulo-Cuero et al., 2021; Ferreira et al., 2012; Leite et al., 2008). Aproximadamente 1 g ($\pm 0,00001$ g) de sedimento, previamente liofilizado (24 h) (figura 2) e macerado, foi transferido para um tubo de vidro (10 mL) com tampa roscável, juntamente com 20 μL dos *surrogates* em concentração de 5,00 mg L^{-1} .



Figura 2 - Liofilização de amostras de sedimento para retirada de umidade.

Após secagem do solvente foram adicionados 3 mL de solução extratora DCM:ACN (18 %, V/V). O tubo foi fechado com tampa e homogeneizado em vórtex por 30 s, sonicado por 20 min (Lavadora Ultrassônica Unique) e após decantação o sobrenadante foi filtrado com seringa hipodérmica acoplada a unidade filtrante em politetrafluoroetileno (PTFE) hidrofílico com porosidade de 0,45 μm para outro tubo de vidro. O procedimento foi repetido por mais duas

vezes e os extratos combinados totalizaram volume de 7 mL. Esses extratos foram reduzidos a aproximadamente 0,5 mL em evaporador rotativo a vácuo Christ, modelo RVC 2-18 CD Plus (60 °C, 1500 rpm durante 75 min) (Figura 3).



Figura 3 - Evaporador rotativo à vácuo.

O extrato foi transferido para o topo de uma coluna cromatográfica de vidro com dimensões de 400 x 5 mm, recheada, de baixo para cima com lã de vidro, SiO_2 ativada em estufa 105°C (24 h), Al_2O_3 (1,0 g), Na_2SO_3 (0,5 g), cobre sólido ativado (0,25 g) e lã de vidro (Figura 4).



Figura 4 - Coluna cromatográfica de vidro recheada de baixo pra cima com lã de vidro, SiO_2 , Al_2O_3 , Na_2SO_3 , Cu e lã de vidro.

A amostra foi eluída com 10 mL de solução de HX:DCM (3:2) sob pressão positiva de gás argônio (99 %). O eluato foi coletado (~8 mL) em tubo de vidro, evaporado e ressolubilizado com 300 µL de solução de p-terphenyl D14 em meio de hexano e em concentração de 100 µg L⁻¹. Por fim a solução foi transferida para *inserts* em vidro contidos em vials de 1,5 mL e levados a quantificação por GC-MS.

3.2.5 Curvas analíticas instrumentais

As curvas analíticas instrumentais foram preparadas em oito níveis de concentração, em triplica, variando entre 5,00 a 375 µg L⁻¹. Na Tabela 3 são apresentados os coeficientes de determinação para cada analito (16 HPAs) e os 5 padrões *surrogates*.

Tabela 4- Compostos e parâmetros das curvas analíticas

Composto	Faixa linear (µg L ⁻¹)	r ²
Naftaleno-D8 (<i>surrogate</i>)	5,00 a 375	0,9989
Naftaleno	5,00 a 375	0,9989
Acenaftileno	5,00 a 375	0,9990
Acenafteno-D10 (<i>surrogate</i>)	5,00 a 375	0,9991
Acenafteno	5,00 a 375	0,9990
Fluoreno	5,00 a 375	0,9990
Fenantreno-D10 (<i>surrogate</i>)	5,00 a 375	0,9988
Fenantreno	5,00 a 375	0,9990
Antraceno	5,00 a 375	0,9988
Fluoranteno	5,00 a 375	0,9983
Pireno	5,00 a 375	0,9983
Chrysene	5,00 a 375	0,9926
Criseno-D12 (<i>surrogate</i>)	10,0 a 375	0,9955
Benzo[a]antraceno	5,00 a 375	0,9969
Benzo[b]fluoranteno	5,00 a 375	0,9927
Benzo[k]fluoranteno	5,00 a 375	0,9956
Benzo[a]pireno	25,0 a 375	0,9890
Perileno-D12 (<i>surrogate</i>)	10,0 a 375	0,9878
Indeno[1,2,3-cd]pireno	25,0 a 375	0,9866
Dibenzo[a,h]antraceno	25,0 a 375	0,9778
Benzo[ghi]perileno	5,00 a 375	0,9906

Padrão interno (IS): p-terfenil-D14 em concentração de 100 µg L⁻¹.

3.2.6 Determinações cromatográficas por GC-MS

A determinação dos HPAs foi conduzida de acordo com diversos estudos (Braga et al., 2018; Dal Pont et al., 2019; Ortega Fernández et al., 2022). Para a separação, identificação e quantificação dos HPAs foi utilizada a técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), conforme literatura. As quantificações foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu QP-2010 acoplado a um espectrômetro de massas modelo TQ-8040. O sistema GC-MS foi operado utilizando Hélio de alta pureza (99,999 %) como gás de arraste, em vazão de 1,56 mL min⁻¹, fornecido pela empresa White Martins (Paraná, Brasil). Padrões analíticos e amostras foram injetados em volume de 1 µL, em modo *splitless*, com o injetor em 270 °C, sem pulso de pressão e tempo de amostragem de 4 min. A coluna cromatográfica, inicialmente, foi mantida em 50 °C por 5 min, seguida por aquecimento a 5 °C min⁻¹ até 230 °C, gradiente 2 °C min⁻¹ até 250 °C e finalmente rampa a 5 °C min⁻¹ até 300 °C, mantida por 8 min. A linha de transferência e fonte de íons foram operados em 280 e 230 °C, respectivamente. Visando maiores seletividade e detectabilidade, os analitos foram quantificados por monitoramento seletivo de íons (SIM) (Tabela 4).

Tabela 5 - Compostos, tempos de retenção e razões m/z de quantificação e confirmação utilizados no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM)

Composto	Tempo de retenção (min)	m/z* quantificação	m/z confirmação
Naftaleno-D8 (surrogate)	9,21	136	136, 137, 108
Naftaleno	9,25	128	128, 127, 129
Acenaftileno	12,80	152	152, 151, 150
Acenafteno-D10 (surrogate)	13,15	162	162, 164, 160
Acenafteno	13,22	153	153, 154, 152
Fluoreno	14,45	166	166, 165, 164
Fenantreno-D10 (surrogate)	16,70	188	188, 187, 184
Fenantreno	16,76	178	178, 176, 152
Antraceno	16,88	178	178, 176, 179
Fluoranteno	20,00	202	202, 200, 203

Composto	Tempo de retenção (min)	m/z* quantificação	m/z confirmação
Pireno	20,34	202	202, 200, 201
Chrysene	20,93	244	244, 243, 245
Criseno-D12 (surrogate)	24,88	228	228, 226, 229
Benzo[a]antraceno	24,92	240	240, 236, 241
Benzo[b]fluoranteno	25,03	228	228, 226, 229
Benzo[k]fluoranteno	30,51	252	252, 250, 253
Benzo[a]pireno	30,69	252	252, 250, 253
Perileno-D12 (surrogate)	32,20	252	252, 250, 253
Indeno[1,2,3-cd]pireno	32,44	264	264, 260, 265
Dibenzo[a,h]antraceno	36,21	276	276, 277, 274
Benzo[ghi]perileno	36,35	278	278, 279, 276
Naftaleno-D8 (surrogate)	37,25	276	276, 277, 274

*m/z: razão massa/carga.

3.2.7 Controle e garantia de qualidade

A garantia e controle de qualidade (QA/QC) dos protocolos de extração foram avaliadas por adição de padrões *surrogates* (100 ng g⁻¹) e brancos com os solventes utilizados na extração. Em todas as amostras dos corais e sedimentos, após a pesagem do material seco, foram adicionados os *surrogates* visando avaliar as recuperações em cada extração. Para as amostras de corais os valores médios de recuperação foram: acenaphtene-D10 = 15 ± 9 %, phenantrene-D10 = 36 ± 2 %, chrysene-D12 = 71 ± 3 % e perylene-D12 = 74 ± 6 %. Para sedimentos os valores médios de recuperação foram: acenaphtene-D10 = 30 ± 28 %, phenantrene-D10 = 52 ± 15 %, chrysene-D12 = 91 ± 17 % e perylene-D12 = 97 ± 14 %. Baseados nesses valores os compostos tiveram a concentração ajustada. A cada 10 injeções de amostras foi realizada análise de branco de solvente, para monitorar eventuais efeitos de memória no equipamento. Adicionalmente, em uma das amostras de sedimento (p16), foi realizada fortificação (*spike*) com 20 µL de solução dos HPAs (5,0 mg L⁻¹) proporcionando concentração de 100 ng g⁻¹. Essa amostra

foi preparada de modo análogo as demais e em triplicata. Os valores de recuperação dos HPAs (acenaphthene ao benzo[ghi]perylene) variaram de 72 a 139 %, com valores de RSD na faixa entre 6-22 %. Os limites de quantificação (LOQ) e detecção (LOD) dos métodos foram estimados base nos parâmetros das curvas analíticas, sendo $LOQ = 10 \cdot s/S$ e $LOD = 3,3 \cdot s/S$, onde s é a estimativa de desvio padrão da interceptação e S a inclinação média (Ermer and Ploss, 2005).

3.2.8 Caracterização do sedimento

3.2.8.1 Granulometria

As análises granulométricas foram realizadas através do peneiramento úmido e seco (Mudroch & Macknight, 1994), e classificados com base na escala de Wentworth.

A distribuição dos HPAs e a concentração desses compostos nos sedimentos estão diretamente relacionadas à granulometria e às características das frações de sedimento, como a fração fina e a fração grossa.

Sedimentos com granulometria mais grosseira (como areia e cascalho) tendem a apresentar uma menor quantidade de matéria orgânica e maior concentração de sílica, o que reduz a capacidade de retenção e interação com substâncias como os HPAs. Isso ocorre porque a presença de sílica nos sedimentos mais grosseiros proporciona uma maior estabilidade estrutural, dificultando a adsorção de compostos lipofílicos como os HPAs. Como resultado, nesses sedimentos, os HPAs têm menor afinidade para se fixar nas partículas, e sua mobilidade tende a ser maior.

Por outro lado, sedimentos com granulometria mais fina (como silte e argila), que apresentam maior conteúdo de matéria orgânica, têm uma maior capacidade de adsorver os HPAs. A fração fina, rica em material orgânico, oferece mais superfícies para que os HPAs se prendam, aumentando sua retenção e diminuindo a mobilidade desses compostos. Além disso, partículas finas possuem maior área de superfície específica, o que favorece a interação com os HPAs, facilitando sua absorção e concentração nesses sedimentos (HUANG et al, 2012)

3.2.8.2 Matéria Orgânica

O conteúdo de carbonato de cálcio (CaCO₃) foi quantificado através de ataque ácido (HCl 5N) (Hirota & Szyper, 1976) e o teor de matéria orgânica (MO) quantificado através do método de perda de massa por ignição (mufla a 400°C) (Luczak et al., 1997).

3.3 Ensaio ecotoxicológicos

3.3.1 Ouriço do mar *Echinometra lucunter* (Echinodermata, Echinoidea)

Foi realizado de acordo com a norma técnica ABNT/NBR 15350:2020, que consiste na exposição de embriões de ouriço-do-mar a diferentes concentrações da substância química a ser testada ou amostras ambientais durante o período de desenvolvimento embriolarval, ou seja, de 36h a 42h para *Echinometra lucunter* (ABNT, 2012).

As amostras de interface sedimento-água foram preparadas utilizando uma membrana semipermeável fixada com um suporte circular estéril a altura de 1cm da base do tubo de ensaio de 10ml acrescentando 1g de sedimento para completar a altura de aproximadamente 0,5 centímetros e preenchido com 8 ml de água preparada cuidadosamente para evitar a formação de bolha, conforme metodologia descrita por Cesar et al., (2007).

Para obtenção dos gametas de organismos foi realizada uma injeção de solução de KCL e choques elétricos em baixas voltagens em corrente alternada de 12 Volts. Após isso, foi feita a verificação de viabilidade dos óvulos analisando em microscópio a sua estrutura, a qual precisa apresentar formato redondo e tamanho regular. Em seguida, é realizada a fecundação deles utilizando os espermatozoides armazenados sob refrigeração e posteriormente é feita a contagem do número de óvulos fecundados que podem ser identificados através da observação da membrana de fecundação (ABNT 2020) ao seu redor tendo como padrão, no mínimo 80% de ovos fecundados.

Em seguida, é calculado o volume de solução de ovos fecundados para utilizar no teste, tendo que, conforme a norma técnica, para cada volume deve conter aproximadamente 300 ovos (ABNT 2020).

Em relação à conclusão da montagem do teste, é feito o registro do início do horário e são armazenados em uma câmara na temperatura de 25 ± 2 °C por períodos de 24 a 48 horas de acordo com a norma técnica (ABNT 2020).

Após finalização desse processo, depois de 24 horas, retira-se uma pequena alíquota de 100 uL para analisar partes da amostra entre algumas réplicas do controle para verificar o estágio de desenvolvimento de aproximadamente 50 embriões, e, então, encerra o experimento se no mínimo 80% dos embriões alcançarem, no estágio de desenvolvimento larval de equinopluteus, um bom desenvolvimento.

Por conseguinte, cada tubo é transferido para um frasco contendo 0,5 ml de formol tamponado com bórax. Os frascos devem ser tampados e agitados para preservação.

Para realizar a leitura, deve-se analisar as amostras de cada frasco no microscópio em uma câmara de Contagem Sedgwick-Rafter, verificando o estágio de desenvolvimento e a ocorrência de anomalias nos 100 primeiros organismos registrando todas as observações.

3.3.2 Nitokra sp.

Para realização do teste, foram colocados 6,5g de sedimento homogeneizado em beakers de volume final 25 ml e usadas 4 réplicas por amostra. Foi adicionado água do mar preparada com salinidade 17 até o volume de 15 ml cuidando para causar menor perturbação possível no sedimento, e, em seguida, foi armazenado por 24 horas para aclimação.

Após o período de aclimação, foram selecionadas 7 fêmeas ovadas obtidas do cultivo de *Nitokra sp* utilizando pipeta Pasteur e Lupa. Além de introduzir os copépodes no béckers foi realizada a alimentação com adição de 100 µL de mistura de leveduras e água, logo no início do experimento. Os frascos foram mantidos sob condições controladas em estufa a 25 °C e com fotoperíodo automático por 5 dias.

A finalização do teste foi feita com a adição de 1 ml de formaldeído a 10% misturado com corante floxina ou rosa bengala de forma que ocorresse a manutenção e conservação estrutural dos copépodos para posterior contagem.

A separação dos indivíduos foi efetuada utilizando peneiramento de frações do sedimento com malha de 0,45 µm e pisseta com água. Após a contagem, foi calculado o índice de fecundidade como mostra a fórmula abaixo:

$$Fecundidade = \frac{Náuplios + Copepoditos}{Fêmeas}$$

3.3.3 Análise de dados nas espécies *Echinometra lucunter* e *Nitokra* sp.

A análise dos dados para os *Equinopluteus* foi realizada com o objetivo de avaliar o impacto do sedimento sobre o desenvolvimento embrionário da espécie. O estudo envolveu a observação dos 100 primeiros organismos, analisando seu estágio de desenvolvimento e verificando a ocorrência de anomalias nas fases iniciais. As informações coletadas permitiram uma avaliação detalhada do efeito da substância química, considerando a presença de malformações ou atrasos no desenvolvimento normal dos organismos.

E, em relação a análise da espécie *Nitokra sp.*, durante o procedimento foram coletados dados sobre a taxa de fecundidade da espécie com foco na contagem dos indivíduos após a exposição ao agente tóxico. O índice de fecundidade foi então calculado, permitindo a comparação entre os grupos expostos e o controle, a fim de identificar possíveis impactos da toxicidade na capacidade reprodutiva da espécie.

Esses dados fornecem informações sobre os efeitos tóxicos em estágios iniciais do desenvolvimento e na reprodução das espécies estudadas, auxiliando na compreensão do impacto ambiental das substâncias testadas nos organismos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados a respeito da contaminação das amostras de corais coletados nos pontos Aiúia (coral 1), Japa raso 1 (coral 2), afetado raso 1 (coral 3) e Barreira do Boqueirão (coral 4) estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 6 - Concentração de HPAs determinada nas amostras de corais da espécie *Mussismilia hartii*.

	Aiúia (1)	Japa Raso 1 (2)	Afetado raso 1 (3)	Barreira do Boqueirão (4)	LOQ	LOD
	ng g ⁻¹					
Naftaleno	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<0,91
Acenaftileno	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<0,91
Acenafteno	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<0,91
Fluoreno	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<0,91
Fenantreno	6,27	16,13	7,49	10,66	<3,00	<0,91
Antraceno	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<0,91
Fluoranteno	4,51	5,98	4,53	5,69	<3,00	<0,91
Pireno	5,86	7,58	6,34	6,96	<3,00	<0,91
Benzo[a]antraceno	8,34	8,44	8,24	7,69	<3,00	<0,91
Criseno	5,89	5,94	5,83	6,11	<3,00	<0,91
Benzo[b]fluoranteno	75,97	8,45	9,78	18,53	<3,00	<0,91
Benzo[k]fluoranteno	69,89	8,22	9,50	15,66	<3,00	<0,91
Benzo[a]pireno	<15,0	<15,0	<15,0	<15,0	<15,0	<4,54
Indeno[1,2,3-cd]pireno	16,06	15,74	15,63	16,08	<15,0	<4,54
Dibenz[a,h]antraceno	19,45	19,59	19,57	19,68	<15,0	<4,54
Benzo[ghi]perileno	9,13	8,79	8,94	9,20	<6,00	<1,82
∑HPAs	221	105	96	116	-	-

*LOQ e LOD: Limites de quantificação e detecção (ng g⁻¹)

Dentre os 16 HPA's analisados, nem todos foram quantificados nas amostras do espécime analisado. Os HPAs observados foram Fenantreno, Fluoranteno, Pireno, Benzo[a]antraceno, Criseno, Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Indeno[1,2,3-cd]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno e Benzo[ghi]perileno. Pode-se observar que o fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno e criseno foram encontrados em todas as amostras do espécime do coral analisado.

Segundo Wang et al. (1999), HPAs de origem petrogênica são caracterizados pela predominância de HPAs de baixo peso molecular (naftaleno ao antraceno) em relação aos de alto peso molecular. HPAs com 2 e 3 anéis aromáticos e seus derivados alquilados indica influência petrogênica enquanto a presença de 4 e 6 anéis aromáticos indica a presença de fontes pirolíticas. Sendo assim, para a identificação das fontes de HPAs foram utilizados os somatórios dos compostos de menor massa molecular (Σ HPAs de 2 – 3 anéis aromáticos) (Walker et al., 2005) e o somatório dos de maior massa molecular (Σ HPAs de 4 – 6 anéis aromáticos) (Yunker et al., 2002).

As amostras de corais analisadas apresentaram apenas Fenantreno como indicador de origem petrogênica, indicando fontes mistas de contaminação na região. Os HPAs de alto peso molecular (fluoranteno até benzo[ghi]perileno), com exceção do benzo [a] pireno, mostraram-se presentes em todas as amostras analisadas, demonstrando, assim, o impacto de fontes pirolíticas. Tendo em vista a volatilidade e a degradação microbiana desses compostos, eles não tendem a permanecer por muito tempo dissolvidos na água (Montuori et al., 2016), sugerindo, assim, uma fonte recente de HPA possivelmente relacionada ao tráfego contínuo de embarcações na APA.

Dentre os pontos analisados, a soma de HPAS se mostrou na seguinte ordem decrescente entre os pontos: Aiúia>Barreira do Boqueirão> Japa raso> Afetado raso 1. Deve-se atentar ao fato do ponto Aiúia ser o mais afastado da costa e uma área com restrição de usos, onde a pesca e o turismo não são permitidos.

De acordo com Borges (2022), o qual realizou análise em amostras coletadas em 2019, foi detectado HPAs nas amostras de Aiúia, Japaratinga e

Barra do Boqueirão. Nessa ocasião, corais do ponto Aiuia também mostraram indícios de maior contaminação.

Comparando os resultados das análises entre amostras de 2019 e 2021, temos que a espécie *Mussismilia hartii* coletada no ponto “Aiuia” apresentou Naftaleno e Acenafteno na amostra coletada em 2019, enquanto na amostra de 2021 não foi detectado. Além disso, enquanto na amostra de 2019 não foi encontrado a presença de criseno, benzo[k]fluoranteno, dibenzo[a,h]antraceno e benzo[ghi]perileno, na amostra de 2021 foi detectado a presença desses HPAs de origem pirolítica, indicando maior bioacumulação da fração leve petrogênica (naftaleno e acenafteno) durante o início do derramamento de óleo, o que não perdurou 2 anos após o acidente.

Tabela 7 - Caracterização do sedimento quanto à granulometria e matéria orgânica.

Pontos de coleta	Nº do ponto	Fração fina (%)	Fração grossa (%)	Matéria Orgânica
Estuário do Salgado 1	1	5,26	94,74	26,30
Estuário do Salgado 2	2	5,04	94,96	2,70
Estuário do Salgado 3	3	8,60	91,40	2,05
Gistinga	4	8,91	91,09	4,60
Picãozinho Reserva	5	0,78	99,22	5,85
Cordões	6	4,92	95,08	2,80
Aiuia Fundo	7	36,14	63,86	6,70
Japa Raso 1	8	86,66	13,34	7,15
João Martins	9	11,22	88,78	4,80
Japa Raso 2	10	89,50	10,50	7,25
Afetado Raso 1	11	5,98	94,02	5,64
Afetado Raso 2	12	2,004	97,99	3,15
Boqueirão 1	13	19,34	80,66	5,60

Manguaba 3	14	9,14	90,86	3,00
Manguaba 2	15	11,94	88,06	2,85
Manguaba 1	16	39,71	60,29	5,75

Na tabela 7 pode-se observar os resultados das análises químicas das 16 amostras de sedimento da APA, sendo 6 amostras de sedimento estuarino (pontos 1, 2, 3, 14, 15 e 16). Através das concentrações de HPAs determinadas, pode-se afirmar que a quantificação dos sedimentos em áreas estuarinas foram mais altas. A Tab. 8 traz valores de referência nacionais e internacionais para sedimento.

Tabela 8 - Concentração de HPAs determinadas nas amostras de sedimentos (ng g⁻¹).

	pt01	pt02	pt03	pt04	pt05	pt06	pt07	pt08	pt09	pt10	pt11	pt12	pt13	pt14	pt15	pt16	LOQ*	LOD*
	ng g ⁻¹																	
Naftaleno	2,66	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<0,45
Acenaftileno	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	3,67	<1,50	1,81	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	3,19	<1,50	<1,50	<1,50	<0,45
Acenafteno	2,84	1,91	1,95	2,13	5,18	2,86	9,05	2,97	2,05	2,74	2,20	2,51	3,10	7,77	3,94	3,26	<1,50	<0,45
Fluoreno	4,80	2,44	2,95	3,19	9,00	3,70	10,86	3,37	2,64	5,35	3,22	4,22	3,92	8,38	6,13	4,41	<1,50	<0,45
Fenantreno	15,79	7,97	9,32	8,31	15,63	8,38	15,97	7,31	7,96	14,06	7,85	9,39	8,03	15,76	10,99	10,64	<1,50	<0,45
Antraceno	3,20	2,05	11,33	2,27	18,68	2,47	19,44	2,25	2,48	2,96	9,77	2,66	3,09	19,22	2,75	13,18	<1,50	<0,45
Fluoranteno	8,94	4,05	4,33	4,77	5,33	4,35	5,98	4,72	3,96	6,73	4,54	5,35	5,40	18,51	6,05	7,50	<1,50	<0,45
Pireno	9,96	6,07	5,32	6,18	8,04	6,30	6,77	8,99	4,67	8,16	6,35	8,28	8,37	20,66	7,75	7,97	<1,50	<0,45
Benzo[a]antraceno	4,56	4,30	4,28	<0,45	<0,45	<0,45	3,77	<0,45	<0,45	4,65	4,47	3,58	4,29	6,35	4,45	3,95	<1,50	<0,45
Criseno	3,97	3,25	3,12	3,46	3,19	<0,45	3,48	<0,45	3,27	3,52	3,34	3,12	3,02	6,67	3,35	4,04	<1,50	<0,45
Benzo[b]fluoranteno	4,06	<0,45	4,54	4,11	4,17	<0,45	4,05	<0,45	<0,45	<0,45	<0,45	<0,45	<0,45	4,11	4,13	3,67	<1,50	<0,45
Benzo[k]fluoranteno	6,77	<0,45	4,14	<0,45	<0,45	<0,45	4,83	4,35	3,63	9,04	4,61	4,07	4,07	10,03	4,14	5,81	<1,50	<0,45
Benzo[a]pireno	7,04	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	8,43	<0,91	8,13	<7,50	<2,27
Indeno[1,2,3-cd]pireno	8,71	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	8,07	<2,27	<2,27	10,05	<2,27	<2,27	<7,50	<2,27
Dibenz[a,h]antraceno	8,97	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	7,74	<2,27	<2,27	<2,27	<2,27	9,71	<2,27	<2,27	9,82	<2,27	<2,27	<7,50	<2,27
Benzo[ghi]perileno	7,37	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	7,80	<0,91	<3,00	<3,00	<0,91
∑HPAs	100	32	51	34	73	36	86	34	31	57	64	43	43	157	54	73	-	-

*LOQ e LOD: Limites de quantificação e detecção (ng g⁻¹)

Tabela 9 - Valores limite de HPA's utilizados como referência em normas nacionais e internacionais (CONAMA, TEL e PEL) sobre a qualidade dos sedimentos (adaptado de Borges, 2022).

Concentrações limite de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos utilizados como indicadores sobre a qualidade e as alterações dos sedimentos (µg/Kg)					
HPA	Nível 1	Nível 2	TEL	TEL	PEL
Fonte	CONAMA 454\2012	CONAMA 454\2012	CCME 1999	Menchaca et al. 2014	Menchaca et al. 2014
Acenaphthene	16	500	6.71	—	4.5
Acenaphthylene	44	640	5.87	—	—
Anthracene	85,3	1100	46.9	—	39.6
Benzo[a]anthracene	230	690	31.7	14.2	135
Benzo[a]pyrene	280	760	31.9	9.8	125
Chrysene	300	850	57.1	8.9	114
Dibenzo[a,h]anthracene	43	140	6.22	3.9	43.9
Fluoranthene	600	5100	111	14.4	193
Fluorene	19	540	21.1	—	17.4
Naphthalene	160	2100	34.6	5.5	31.7
Phenanthrene	240	1500	41.9	13.3	97.3
Pyrene	665	2600	53	18.9	181
Benzo[b]Fluoranthene	—	—	—	5.8	168
Benzo[k]Fluoranthene	—	—	—	—	—
Benzo[g,h,i] perylene	—	—	—	5.1	79.9
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	—	—	—	6.5	101
Dibenzofuran	—	—	—	—	—
Total de PAHsb	—	—	—	197	1500

De acordo com Borges (2022), o qual realizou análise de sedimento coletados em 3 pontos da APA durante o mês de novembro de 2019, a maioria dos valores dos compostos de HPAs das amostras coletadas estão abaixo do limite de quantificação, sendo identificados e quantificados os HPAs: Criseno em concentrações de 22,7 ng/g, 17,6 ng/g, 12,1 ng/g nos Pontos Aiuiá, Japaratinga e Barreira do Boqueirão respectivamente e também o composto

Benzo[a]anthraceno em concentrações de 16,7 ng/g, 19 ng/g e <12,0 ng/g nos Pontos Aiuiá, Japaratinga e Barreira do Boqueirão respectivamente.

Já em relação às análises feitas das amostras de 2021, foi identificado Criseno em concentrações 3,48 ng/g, 3,52 ng/g e 3,02 ng/g nos pontos Aiuiá fundo, Japa Raso 2 e Boqueirão respectivamente, não havendo detecção de HPA no Japa Raso 1, e, além disso, as concentrações encontradas nas amostras de 2021 foram menores que as amostras de 2019.

Em relação ao composto Benz[a]antraceno nas amostras de 2021, foi identificado concentrações 3,77 ng/g, 4,65 ng/g e 4,29 ng/g nos pontos Aiuiá fundo, Japa Raso 2 e Boqueirão respectivamente, também não havendo detecção de HPA no Japa Raso 1. Observa-se também uma menor concentração desse composto nas amostras analisadas de 2021 em relação às de 2019.

De acordo com Borges, nas amostras coletadas e analisadas de 2019, somente foram detectados Criseno e Benzo[a]antraceno, enquanto nas amostras coletadas de 2021, foram detectados, além desses dois compostos, outros HPAs analisados. Pode-se dar destaque aos pontos: 1 (Estuário salgado 1), ponto 2 (Estuário salgado 2), ponto 3 (Estuário salgado 3), ponto 14 (Manguaba 3), ponto 15 (Manguaba 2) e ponto 16 (Manguaba 1), os quais são todos pontos de sedimento estuarino. Dentre os pontos marinhos, destaca-se Aiuiá (Pt07), assim como observado por Borges (2022) e no presente estudo quanto à bioacumulação em corais.

Foram utilizados valores de referência internacionais e nacionais de qualidade dos sedimentos SGQ (*Sediment Quality Guidelines*) (Tabela 8), onde demonstram que as concentrações dos HPAs estão acima dos limites apenas dos valores TEL (Threshold Effects Level), segundo a classificação de Menchaca *et al.*, (2014). Já em relação aos critérios da norma CONAMA 454/2012 ou CCME (Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente), os valores de contaminação obtidos nas análises, não representam indicadores ruins de qualidade dos sedimentos.

Tendo em vista a razão $\Sigma(2-3)/\Sigma(4-6)$, através dos resultados obtidos nas tabelas anteriores, pode-se perceber que foi encontrado um nível maior de HPA nas amostras coletadas em estuários, com indícios de fontes pirolíticas e petrogênicas. O óleo introduzido em ambientes marinhos passa por processos

de dispersão, evaporação e dissolução contribuindo para o intemperismo, o que pode explicar os baixos níveis de contaminação no sedimento (WANG et al., 1999, Kingston et. al., 2002).

Outra possibilidade envolve os mecanismos naturais dos processos biológicos, nos quais as comunidades microbianas desempenham um papel fundamental na biodegradação (GOMEZ GESTEIRA E DAUVIN, 2005; SCHRATZBERGER et al., 2003; POWELL et al., 2005). Além disso, a liberação de compostos tóxicos (HPA) presentes no óleo, também pode ocorrer através da bioturbação, reduzindo, assim, as concentrações de HPA nos sedimentos (QUEIROS et al.; 2013). Ainda sim, apesar dos processos biológicos e hidrodinâmicos contribuírem para a remoção dos HPAs do sedimento, os eventos físicos se destacam no intemperismo dos hidrocarbonetos (BRADSHAW et al., 2006).

Ensaio de toxicidade com larvas de ouriço do mar *Echinometra lucunter* (Figura 5) demonstraram maior toxicidade no tratamento interface sedimento-água das amostras estuarinas (Salgado 2, Manguaba 1 e 2), além da amostra marinha Japa raso 2. Em todos esses pontos foram identificadas concentrações de HPAs com potencial efeito tóxico sobre o desenvolvimento embrionário de invertebrados. Enquanto em análises realizadas por Borges (2022) demonstrou toxicidade crônica em todas as amostras analisadas do ano de 2019.

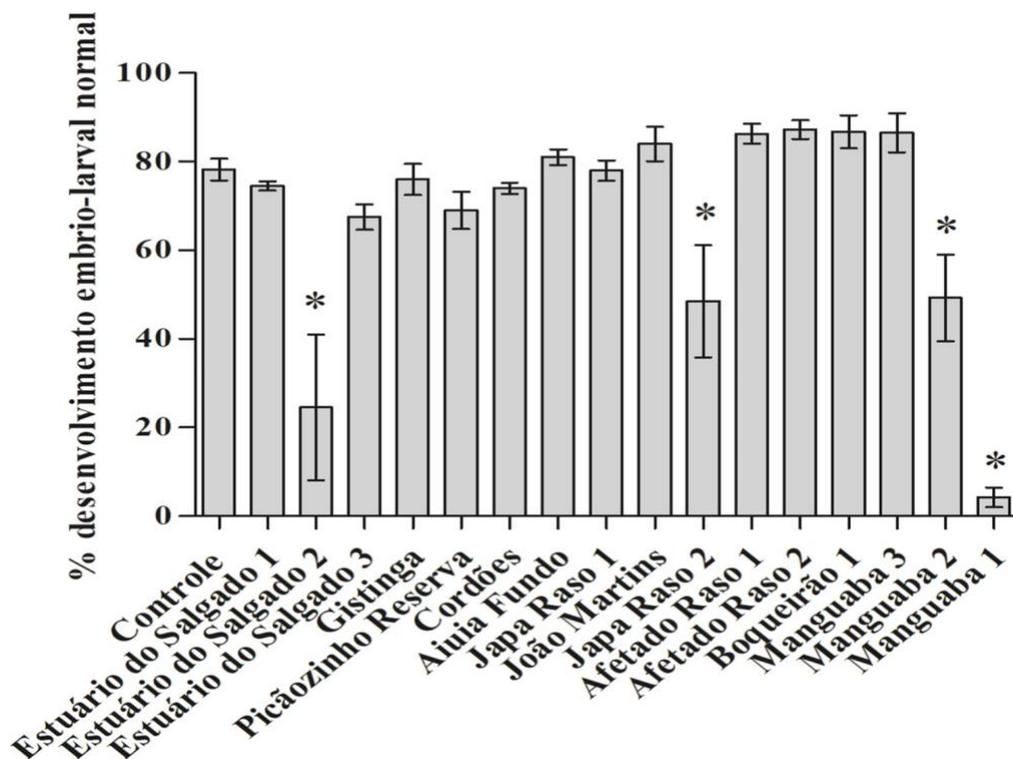


Figura 5 - Resultados do ensaio de desenvolvimento embriolarval com ouriço do mar 2021. * = diferença significativa em relação ao Controle ($p < 0,05$).

A fim de aprofundar o entendimento sobre a qualidade dos pontos estuarinos e diminuir a ação de possíveis interferentes (compostos nitrogenados, pH, salinidade, etc.), ensaios com *Nitocra* sp. expostos a sedimento integral dos pontos estuarinos evidenciou efeitos significativos no estuário Manguaba (Figura 6). Esse estuário apresenta diversas fontes pontuais de HPAs como transporte marítimo por balsas e barças, movimento e guarda de embarcações de pesca e recreação, moradias e atividades comerciais sem conexão com rede de esgoto.

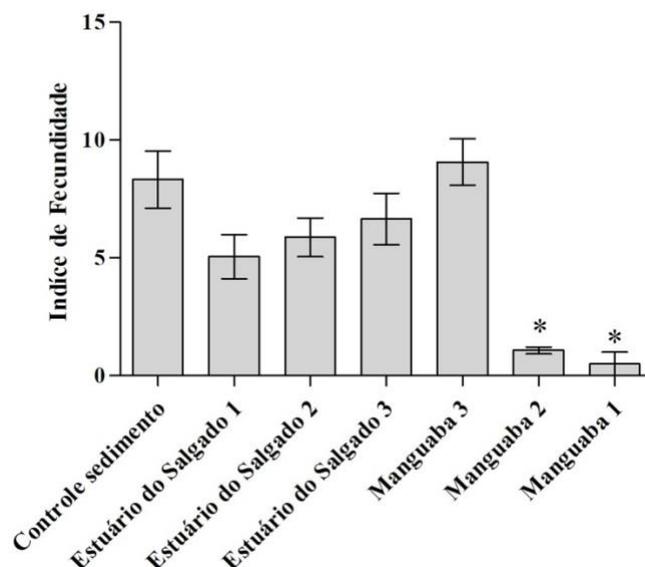


Figura 6 - Resultados do ensaio de fecundidade com *Nitocra* sp. * = diferença significativa em relação ao Controle ($p < 0,05$).

De acordo com Borges (2022), o ensaio realizado com amostras de 2019 de *E. lucunter*, foi observado toxicidade crônica em todas as amostras analisadas sendo elas Aiúia, Japaratinga e Barreira do boqueirão. Já as amostras de 2021, resultou em toxicidade nos pontos Estuário do Salgado 2, Japa Raso 2, Manguaba 2 e Manguaba 1.

Nesse contexto, a região estudada parece ter se recuperado quanto à toxicidade do sedimento, na região de praia, com exceção do ponto Japa Raso 2, que se refere ao ponto Japaratinga do estudo de Borges (2022) com amostras coletadas durante o vazamento. Esse ponto foi considerado o mais afetado e após 2 anos ainda reflete efeitos tóxicos. Já os pontos estuarinos (Estuário do Salgado e Manguaba 1 e 2) apresentaram toxicidade e HPAs de origem pirolítica, o que indica impacto de fontes pontuais recentes, não relacionadas ao derramamento de 2019.

De acordo com Choueri (2024), o qual realizou um estudo de contaminação de HPAs na água e sedimento em oito praias adjacentes a áreas recifais na costa de Pernambuco (Praia de Janga, praias da cidade de Cabo de Santo Agostinho (não quantificadas isoladamente), Complexo Estuarino de Suape, Praia de Muro Alto, Praia de Cupe, Praia dos Carneiros e

Praia de Mamucabas), após a realização da análise das coletas das duas campanhas realizadas em março e outubro de 2021, foi detectado baixa concentração de HPAs em ambos os períodos.

Segundo Choueri (2024), o naftaleno esteve presente em todas as amostras de março, sendo o composto de maior concentração em relação aos outros, seguido do fenantreno. Já em relação às amostras de outubro, o fenantreno e naftaleno também estiveram presentes em todas as amostras analisadas, porém seguidos do indeno[1,2,3-cd]pireno e do benzo[ghi]perileno.

Esses resultados em parte diferem do presente estudo, pois dentre os HPAS leves e de origem petrogênica, o Fenantreno se destacou tanto na contaminação dos corais como do sedimento em todos os pontos analisados. O sedimento ainda apresentou Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno e Antraceno entre os HPAS leves. Assim como no estudo de Choueri et al. (2024), os mesmos compostos de origem pirolítica (indeno[1,2,3-cd]pireno e do benzo[ghi]perileno) foram detectados em corais, indicando fontes locais e recentes de poluição. Os resultados do sedimento confirmam fontes pirolíticas ao destacar uma maior soma de HPAs pesados, com ênfase em Fluoranteno e Pireno presentes em todos os pontos amostrados.

5. CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados apresentados acima, pode-se concluir que após 2 anos do vazamento há um maior nível de contaminação por HPAs de fontes mistas, tanto pirolíticas quanto petrogênicas, com níveis mais elevados e toxicidade mais pronunciada em áreas estuarinas. O Ponto AIUIA repetiu os maiores resultados de contaminação observado na campanha de 2019, denotando contaminação apesar das medidas de acesso e uso da área. Essas descobertas apontam para a presença de fontes recentes de contaminação e implicam um potencial risco significativo para a biota aquática nos pontos 1, 2, 3, 14, 15 e 16 (Estuário do Sagado 1, Estuário do Salgado 2, Estuário do Salgado 3, Manguaba 1, Manguaba 2 e Manguaba 3). Diante disso, medidas de gestão da APA Costa dos Corais são necessárias para a mitigação desses impactos e proteção dos habitats e seus serviços ecossistêmicos.

Referências Bibliográficas

- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). Ecotoxicologia aquática toxicidade crônica de curta duração– Método de ensaio com ouriço-do-mar, *Echinometra lucunter* (Echinodermata: Echinoidea). Norma ABNT-NBR 15350. 2012
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras. NBR 15469. 2015
- ANGULO-CUERO, J., GRASSI, M.T., DOLATTO, R.G., PALACIO-CORTÉS, A.M., ROSERO-MOREANO, M., ARISTIZÁBAL, B.H., 2021. Impact of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangroves from the Colombian pacific coast: Evaluation in sediments and bivalves. *Mar. Pollut. Bull.* 172. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112828>.
- ARAÚJO M. E.; RAMALHO, C. W. N.; MELO, P. W. Pescadores artesanais, consumidores e meio ambiente: consequências imediatas do vazamento de petróleo no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 36, 2020.
- BORGES, Leonardo Sorence; PEREIRA, Camilo Dias Seabra. **Avaliação ecotoxicológica de áreas impactadas por petróleo na APA Costa dos Corais**. Santos, SP, 2022. 75 f..
- BRAGA, M.A., BRAUKO, K.M., VICENTINI, M., SALGADO, L.D., SILVA DE ASSIS, H.C., DOLATTO, R.G., GRASSI, M.T., SANDRINI-NETO, L., LANA, P.C., 2018. Cytotoxicity and enzymatic biomarkers as early indicators of benthic responses to the soluble-fraction of diesel oil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 164, 21–31.
- BRASIL. Lei nº 9.966, de 28 de abril de 2000. Dispõe sobre a prevenção, o controle e a fiscalização da poluição causada por lançamento de óleo e outras substâncias nocivas ou perigosas em águas sob jurisdição nacional e dá outras providências. Brasil, 2000.
- BUCKINGHAM-HOWES, Stacy et al. Prolonged financial distress after the deepwater horizon oil spill predicts behavioral health. **The Journal of Behavioral Health Services & Research**, v. 46, n. 2, p. 294-305, 2019.
- CARLS, Mark G. et al. Petroleum biomarkers as tracers of Exxon Valdez oil. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 35, n. 11, p. 2683-2690, 2016.
- CAPPARELLI, Mariana Velloso et al. Use of geochemical and ecotoxicological approaches to evaluate sediment quality in differentially-contaminated, legally protected reserves along the coast of São Paulo State, Brazil. 2020.
- CESAR, A. ; CHOUERI, R.B. ; RIBA, I. ; MORALES- CASELLES, C. ; PEREIRA, C.D.S. ; SANTOS, A.R. ; ABESSA, D.M.S. ; DELVALLS, T.A. . Comparative sediment quality assessment in different littoral ecosystems from Spain (Gulf of Cadiz) and Brazil (Santos and São Vicente estuarine system). **Environment International**, v. 33, p. 429-435, 2007.
- CHARLES, Mahé et al. Functions and socio-economic importance of coral reefs and lagoons and implications for sustainable management. **Case study of Moorea**,

French Polynesia. Doctorat Thesis, Wageningen University Environmental Science, 2005.

CHOUERI, Rodrigo Brasil, et al. "PAH Residues and Toxicity Levels Two Years after an Extensive Oil Spill on the Northeast Brazilian Coast". *Marine Pollution Bulletin*, vol. 200, março de 2024, p. 116063. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116063>.

CLARK JR., R. C. & BROWN, D. N. 1977. Petroleum properties and analyses in biotic and abiotic systems. In: Malis, D. C. *Effects of petroleum on Arctic and Subarctic environments in organisms. 1 Nature and fate of petroleum*. Academic Press, New York, 89p.

CRISAFI, F. et al. Bioremediation technologies for polluted seawater sampled after an oil-spill in Taranto Gulf (Italy): A comparison of biostimulation, bioaugmentation and use of a washing agent in microcosm studies. **Marine pollution bulletin**, v. 106, n. 1-2, p. 119-126, 2016.

DAL PONT, G., SOUZA-BASTOS, L.R., GIACOMIN, M., DOLATTO, R.G., BAIKA, L.M., GRASSI, M.T., OSTRENSKY, A., WOOD, C.M., 2019. Comparative Biochemistry and Physiology , Part C Acute exposure to the water-soluble fraction of gasoline (WSF G) affects oxygen consumption , nitrogenous-waste and Mg excretion , and activates anaerobic metabolism in the gold fish *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 226, 108590. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108590>.

DE OLIVEIRA SOARES, Marcelo et al. Oil spill in South Atlantic (Brazil): Environmental and governmental disaster. **Marine Policy**, v. 115, p. 103879, 2020.

DE OLIVEIRA ESTEVO, Mariana et al. Immediate social and economic impacts of a major oil spill on Brazilian coastal fishing communities. *Marine Pollution Bulletin*, v. 164, p. 111984, 2021.

DUARTE, Bernardo; CAÇADOR, Maria Isabel Violante (Ed.). *Ecotoxicology of marine organisms*. 2019.

DURELL, G., UTVIK, T.R., JOHNSEN, S., FROST, T., NEFF, J. Oil well produced water discharges to the North Sea. Part I. Comparison of deployed blue mussels (*Mytilus edulis*), semi-permeable membrane devices (SPMDs), and dispersion model predictions to estimate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) dispersion in receiving waters. *Marine Environmental Research*. v. 62, p.194–223, 2006.

ERMER, J., PLOSS, H.-J., 2005. Validation in pharmaceutical analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2004.06.018>.

FERREIRA, V.R., GOUVEIA, C.D., DA SILVA, C.A., FERNANDES, A.N., GRASSI, M.T., 2012. Optimization of an analytical protocol for the extraction, fractionation and determination of aromatic and aliphatic hydrocarbons in sediments. *J. Braz. Chem. Soc.* 23, 1460–1468. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012005000010>.

FROEHNER, S.; MACENO, M. Assessment of bioaccumulation of biphenyls in the

- trophic chain of a coastal area of Parana, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*. v. 164, p. 189-198, 2009.
- GOBAS, F. A. P. C. A model for predicting the bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in aquatic food-webs: Application to Lake Ontario. *Ecological Modelling*, v. 69, p. 1–17, 1993.
- HAN, M., ZHANG, R., YU, K., LI, A., WANG, Y., HUANG, X., 2020. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in corals of the South China Sea: Occurrence, distribution, bioaccumulation, and considerable role of coral mucus. *J. Hazard. Mater.* 384. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121299>.
- HIROTA, J., & SZYPER, J. P. 1975. Separation of total particulate carbon into inorganic and organic components. *Limnology Oceanography*, 20,896–900.
- HUANG, Weixia; WANG, Zhiyuan; YAN, Wen. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Zhanjiang Bay and Leizhou Bay, South China. **Marine pollution bulletin**, v. 64, n. 9, p. 1962-1969, 2012.
- HUETTEL, Markus et al. Degradation of Deepwater Horizon oil buried in a Florida beach influenced by tidal pumping. **Marine Pollution Bulletin**, v. 126, p. 488-500, 2018.
- JACKSON, Jeremy BC. Adaptation and diversity of reef corals. **BioScience**, p. 475-482, 1991.
- JERNELÖV, Arne. The threats from oil spills: now, then, and in the future. **Ambio**, v. 39, n. 5, p. 353-366, 2010.
- Laborel, J. (1969b) - Madréporaires et Hydrocoralliaires Récifaux des Cotes Brésiliennes: Systématique, Écologie, Répartition Verticale et Géographique. In: Masson, E.T. (eds.), “Résultats Scientifiques de Campagnes de la “Calypso””, Cie. Boulevard Saint-Germain, Paris, França
- LEITE, N.F., PERALTA-ZAMORA, P., GRASSI, M.T., 2008. Multifactorial optimization approach for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in river sediments by gas chromatography-quadrupole ion trap selected ion storage mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1192, 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.03.067>.
- LUCZAK, C., et al., 1997. Simple standard procedures for the routine determination of organic matter in marine sediment. *Hydrobiologia*, 345, 87- 94.
- Manchas de óleo/ Litoral brasileira. Disponível em <<http://www.ibama.gov.br/manchasdeoleo>> Acesso em 11 de outubro de 2022.
- MARIANO, J.B. Impactos ambientais do refino de petróleo. Rio de Janeiro: COPPE/UFRJ, 2001.
- MONTUORI, Paolo et al. Distribution, sources and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediments from Tiber River and estuary, Italy. *Science of the Total Environment*, v. 566, p. 1254-1267, 2016.
- MUDROCH, A., MACKNIGHT, S.D. 1994. Handbook of techniques for aquatic sediments sampling (2nd ed., p. 236). Boca Raton: CRC

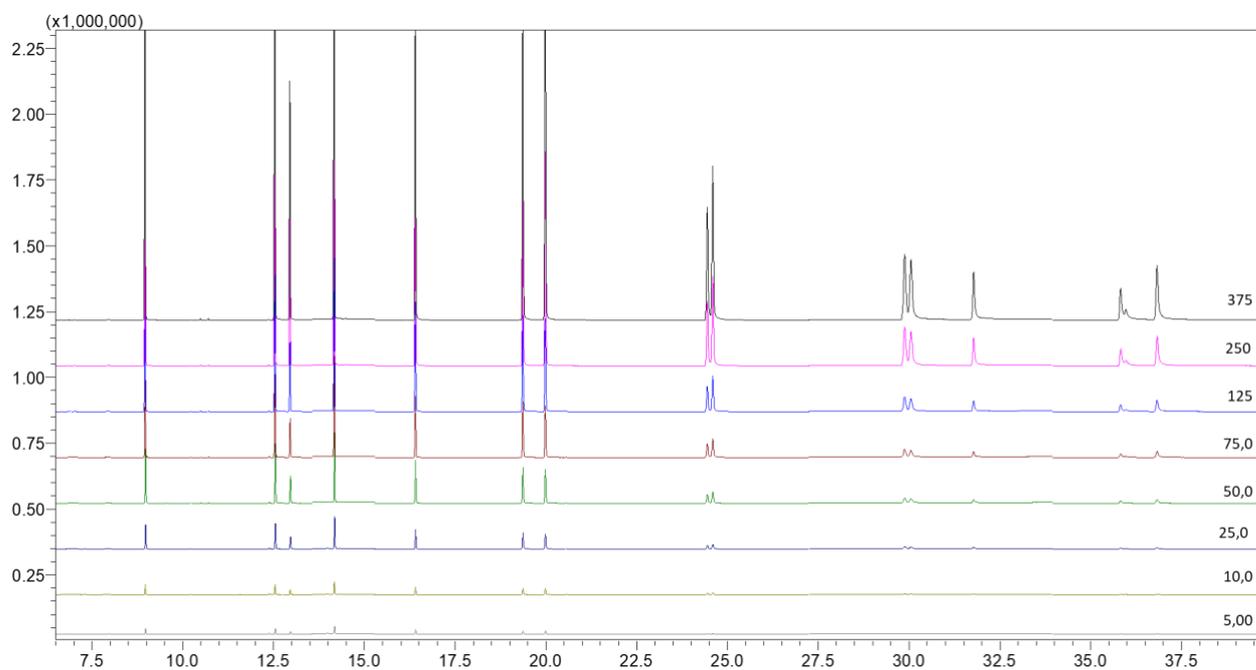
- Óleo que atingiu praias do Nordeste veio de petroleiro grego, diz PF. Disponível em <<https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2021-12/oleo-que-atingiu-praias-do-nordeste-veio-de-petroleiro-grego-diz-pf#:~:text=As%20manchas%20de%20%C3%B3leo%20que,localidades%2C%20em%2011%20estados%20litor%C3%A2neos>> Acesso em 11 de outubro de 2022.
- Ortega Fernández, L.M., Uribe Ante, D.M., Grassi, M.T., Dolatto, R.G., Sánchez, N.E., 2022. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons extracted from lichens by gas chromatography–mass spectrometry. *MethodsX* 9. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101836>.
- PALINKAS, Lawrence A. et al. Ethnic differences in symptoms of post-traumatic stress after the Exxon Valdez oil spill. **Prehospital and Disaster Medicine**, v. 19, n. 1, p. 102-112, 2004.
- PEREZ-UMPHREY, Anna A. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in seaside sparrows (*Ammodramus maritimus*) following the 2010 Deepwater Horizon oil spill. **Science of the total environment**, v. 630, p. 1086-1094, 2018.
- Petróleo – do latim Petra (pedra) e Oleum (óleo). Disponível em <<https://www.fem.unicamp.br/index.php/pt-br/o-que-e-petroleo-dep>> Acesso em 12 de outubro de 2022.
- PHILLIPS, D. J. H.; Rainbow, P. S.; *Biomonitoring of trace Aquatic Contaminants*, 2nd ed., Chapman and Hall: London, 1994.
- POSTHUMA, J. The composition of petroleum. *Rapp. P. v. reun. Cons. perm. int. Explor. Mer.*:171:7-16. 1977.
- RAMADE, F. *Ecotoxicologie*. Masson. **Paris, France, 205p**, 1977.
- ROGOWSKA, Justyna; NAMIEŚNIK, Jacek. Environmental implications of oil spills from shipping accidents. **Reviews of environmental contamination and toxicology volume 206**, p. 95-114, 2010.
- ROTKIN-ELLMAN, Miriam; WONG, Karen K.; SOLOMON, Gina M. Seafood contamination after the BP Gulf oil spill and risks to vulnerable populations: a critique of the FDA risk assessment. **Environmental health perspectives**, v. 120, n. 2, p. 157-161, 2012.
- SELKIRK, J. K.; SLAGA, T. J. *Carcinogenesis: A Comprehensive Survey: Modifiers of Chemical Carcinogenesis*. 1980.
- SHORT, Jeffrey W. Advances in understanding the fate and effects of oil from accidental spills in the United States beginning with the Exxon Valdez. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 73, n. 1, p. 5-11, 2017.
- SINGH, Asha et al. Potential oil spill risk from shipping and the implications for management in the Caribbean Sea. **Marine pollution bulletin**, v. 93, n. 1-2, p. 217-227, 2015.
- SPEERS, G.C.; WITHEHEAD, E.V. Crude petroleum. In: Eglington, G. & Murphy, N.T.J., eds. *Organic geochemistry*. Berlin, **Springer-Verlag**. p. 639-675. 1969.

- VANDERMEULEN, J. H., AND J. M. CAPUZZO. Understanding sublethal pollutant effects in the marine environment. Paper No. 9 in *Ocean Waste Management: Policy and Strategies*. Background Papers of Symposium, May 2-6, 1983, University of Rhode Island, Kingston. 1983.
- VEZZONE, Mariana et al. Metal pollution in surface sediments from Rodrigo de Freitas Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): Toxic effects on marine organisms. **Environmental pollution**, v. 252, p. 270-280, 2019.
- WALKER, S. E.; DICKHUT, R. M.; BRAUSE, C. C.; SYLVA, S.; REDDY, C. M. Molecular and isotopic identification of PAH sources in a highly industrialized urban estuary. *Organic Geochemistry*, v. 36, p. 619–632, 2005.
- WANG, H., CUI, L., CHENG, H., ZHANG, Y., DIAO, X., WANG, J., 2017. Comparative Studies on the Toxicokinetics of Benzo[a]pyrene in *Pinctada martensii* and *Perna viridis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 98, 649–655.
- WISHNOK, John S. Environmental carcinogens: monitoring in vivo using GC/MS. **Analytical chemistry**, v. 64, n. 23, p. 1126A-1135A, 1992.
- YUNKER, M. B.; R. W. MACDONALD, R. VINGARZAN, R. H. MITCHELL, D. GOYETTE & S. SYLVESTRE. PAHs in Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, v.33, p. 489-515, 2002.
- ZAGATTO, P.A. & BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia aquática – Princípios e Aplicações*. Editora Rima, São Carlos. 464 p

APÊNDICES

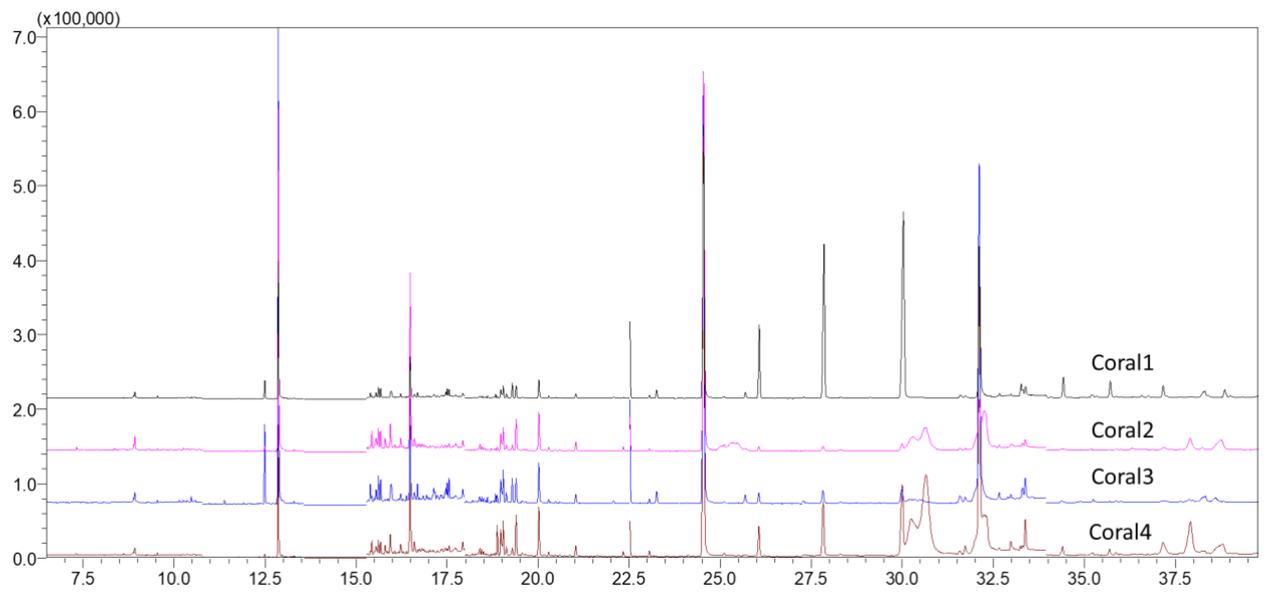
6) Cromatogramas de padrões de HPAs (curvas analíticas) e amostras

6.1. PADRÕES DAS CURVAS ANALÍTICAS

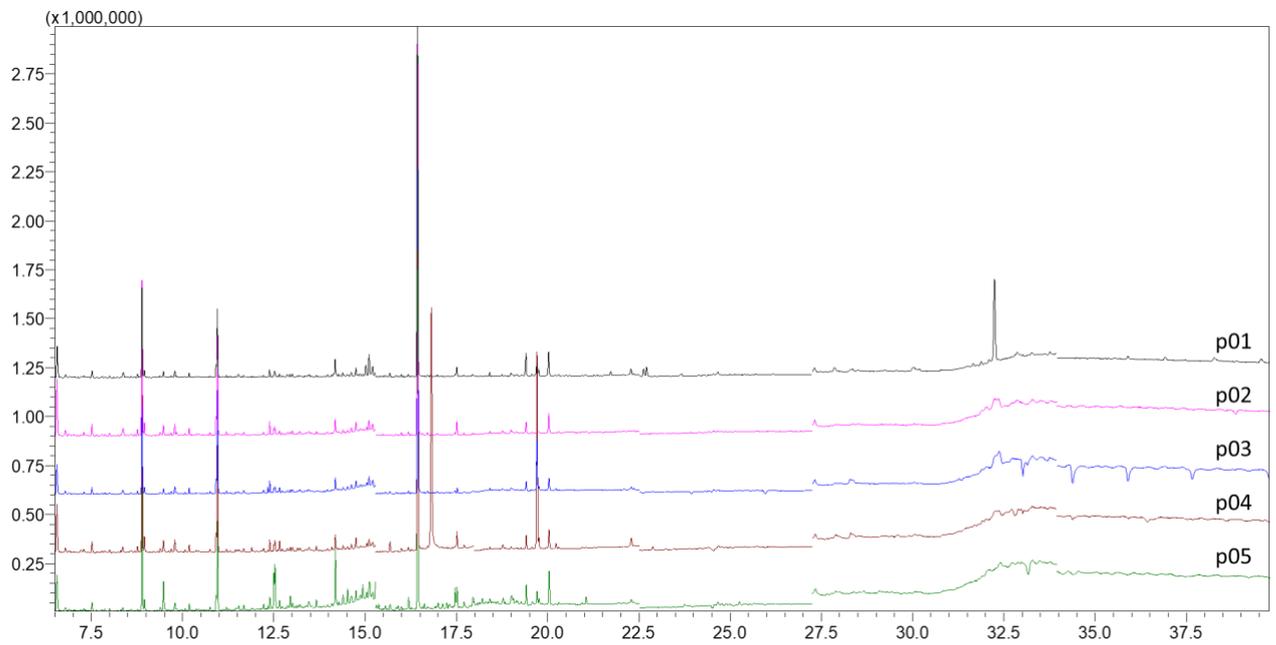


Legenda: Solução HPA e *surrogates* em concentrações de 5,00; 10,0; 25,0; 50,0; 75,0; 125; 250 e 375 $\mu\text{g L}^{-1}$

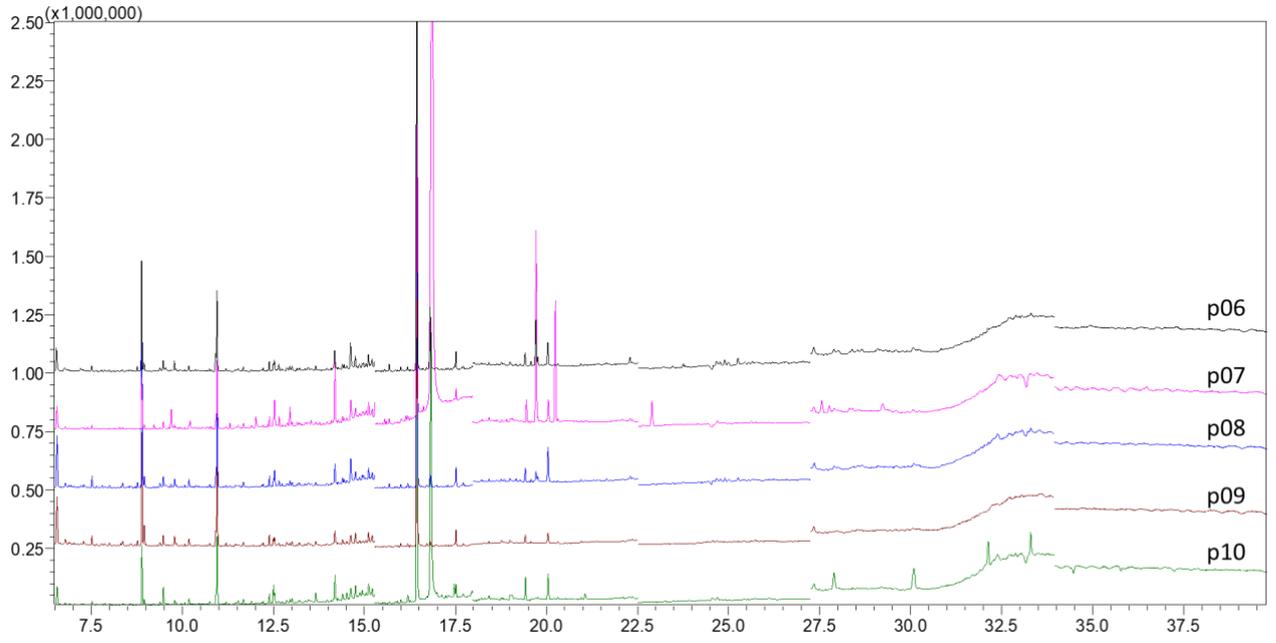
6.2. CORAIS



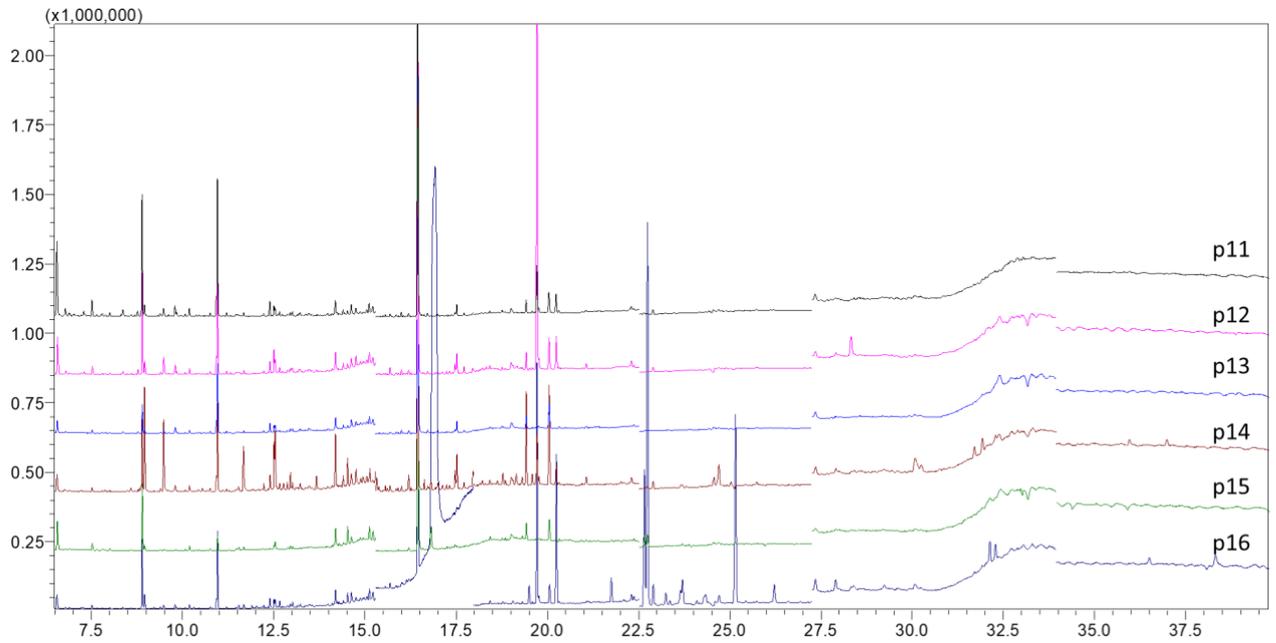
6.3. SEDIMENTOS (p01 a p05)



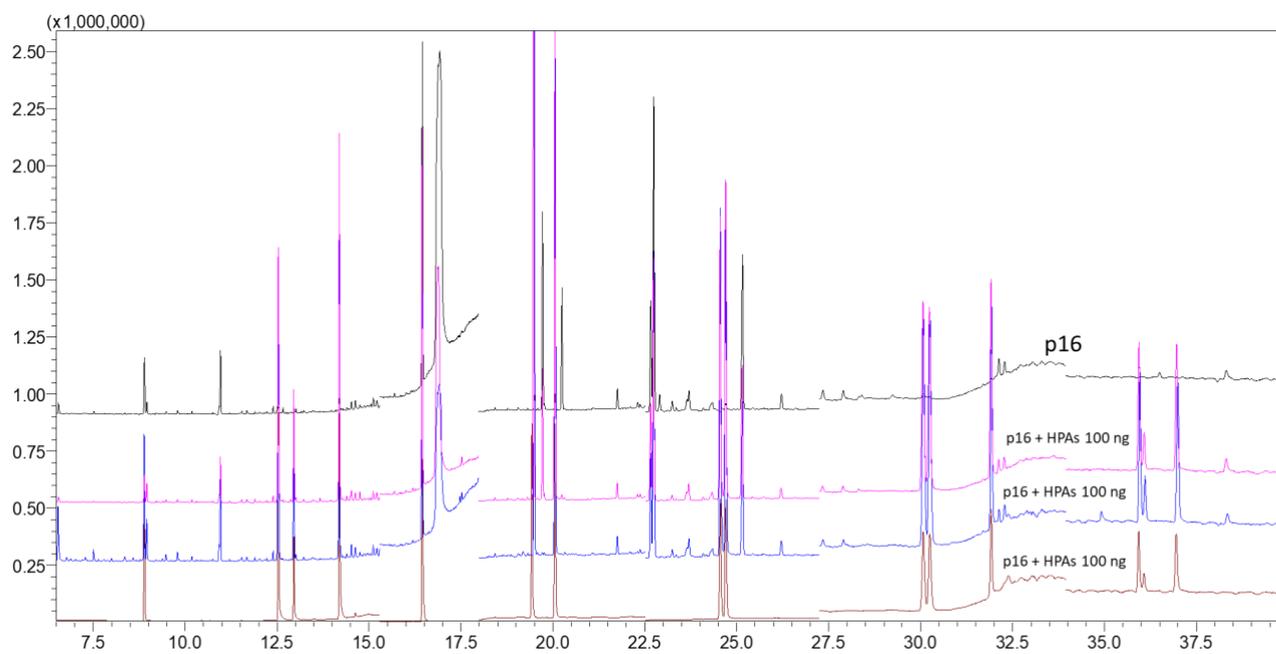
6.4. SEDIMENTOS (p06 a p010)



6.5. SEDIMENTOS (p11 a p16)



6.6. Fortificações (SPIKES) em sedimento p16 e sedimento p16 + HPAs 100 ng g⁻¹



6.7 Artigo submetido

Environmental Science and Pollution Research
Ecotoxicological study of the Environmental Protection Area Costa dos Corais
(Alagoas, Brazil) two years after the 2019 oil spill.
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Ecotoxicological study of the Environmental Protection Area Costa dos Corais (Alagoas, Brazil) two years after the 2019 oil spill.
Article Type:	Research Article
Keywords:	Brazilian Northeast Coast; Environmental Protection area; Petroleum; Bioaccumulation; Toxicity
Corresponding Author:	Camilo Dias Seabra Pereira, PhD Universidade Federal de São Paulo: Universidade Federal de Sao Paulo Santos, Sao Paulo BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal de São Paulo: Universidade Federal de Sao Paulo
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Camilo Dias Seabra Pereira
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Camilo Dias Seabra Pereira Thaís Monsores Silveira Introvigne, Mac Camilo Dias Seabra Pereira, PhD
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (001) MSC Thaís Monsores Silveira Introvigne
Abstract:	The contamination of water, sediment, and coral reefs by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the northeastern region of Brazil following the crude oil spill in 2019 has raised significant concerns regarding its ecological and social impacts. PAHs are toxic compounds that have detrimental effects on marine ecosystems, potentially leading to severe consequences for the health and survival of corals and altering sediment composition, thereby disrupting benthic communities. Understanding the effects of this disaster is crucial for improving mitigation measures and preventing future tragedies, as well as for informing responses to marine oil spills. This study aimed to assess the level of contamination in the Costa dos Corais Environmental Protection Area (Alagoas) two years after the event, using chemical and ecotoxicological analyses. Samples were analyzed through gas chromatography (PAHs) and chronic toxicity assays. The results revealed higher levels of contamination by PAHs from mixed sources (pyrolytic and petrogenic) and increased toxicity in estuarine areas, indicating recent sources of contamination and posing a risk to local aquatic biota.
Suggested Reviewers:	Augusto Cesar Federal University of São Paulo acesar@unifesp.br Ursulla Pereira Universidade Santa Cecilia upsouza@unisanta.br Vinicius Roveria Universidade Metropolitana de Santos