UNIVERSIDADE SANTA CECÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SUSTENTABILIDADE DE ECOSSISTEMAS COSTEIROS E MARINHOS

LEONARDO SORENCE BORGES

Avaliação ecotoxicológica de áreas impactadas por petróleo na APA Costa dos Corais

SANTOS/SP
2022

LEONARDO SORENCE BORGES

Avaliação ecotoxicológica de áreas impactadas por petróleo na APA Costa dos Corais

Dissertação apresentada à Universidade Santa Cecília como parte dos requisitos para obtenção de Título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinhos, sob a orientação da Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira

SANTOS/SP

2022

571.95 Borges, Leonardo Sorence.
B732a Avaliação ecotoxicológica de áreas impactadas por petróleo
na APA Costa dos Corais. /
Leonardo Sorence Borges.
2022.
36 f.

Orientador: Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira

Dissertação (Mestrado)-- Universidade Santa Cecília,
Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Santos,
SP, 2022.

1. Contaminação. 2. Óleo. 3. APA Costa dos Corais.
4. Conservação. I. Pereira, Camilo Dias Seabra.
II. Avaliação ecotoxicológica de áreas impactadas por petróleo
na APA Costa dos Corais

Elaborada pelo SIBi – Sistema Integrado de Bibliotecas - Unisanta

Dedico esse trabalho ao Senhor Jesus Cristo
e a minha mãe Miriam Loureiro pela ajuda
e apoio na minha vida. Obrigado por tudo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar saúde e inteligência para desenvolver meus estudos e atividades. Obrigado pelo seu infinito amor e por sua ajuda em momentos essenciais da minha vida desde meu nascimento. Obrigado por me livrar da morte durante a pandemia onde tantas pessoas perderam suas vidas. Obrigado perdão dos meus pecados, e pela coroa de vida eterna nos céus se eu for um filho firme e fiel até o fim! Obrigado pela mãe que eu tenho e por tantas amizades maravilhosas que o Senhor colocou em meu caminho. Obrigado por tudo, apesar de eu não merecer Seu favor.

Agradeço a minha mãe Miriam Loureiro pelo apoio, amor e ajuda incondicional em todas as fases da minha vida, sem você muitas coisas boas não teriam acontecido e eu não teria conquistado muitas coisas na minha vida. Eu te amo mamãe com todas as minhas forças.

Ao meu orientador, professor Dr. Camilo Dias Seabra Pereira, pela ajuda e orientação durante o mestrado.

Agradeço aos laboratórios de Ecotoxicologia da Unisanta e Unifesp pelo apoio.

Aos professores Dr. Augusto César e Dr. Gustavo Bueno Gregoracci pelo apoio e ajuda em certos momentos.

Ao Dr. Rafael Dolatto e ao Prof. Dr. Marco Grassi do Grupo de Química Ambiental (GQA-UFPR) pelas determinações de HPAs.

Aos amigos de graduação em outra instituição pela amizade e exemplo Marco Aurélio Carius Patrocínio e Engenheiro Vitor Mendes Aguera.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

"...Porque os meus pensamentos não são os vossos pensamentos, nem os vossos caminhos os meus caminhos, diz o Senhor.
Porque assim como os céus são mais altos do que a terra, assim são os meus caminhos mais altos do que os vossos caminhos, e os meus pensamentos mais altos do que os vossos pensamentos.
Porque, assim como desce a chuva e a neve dos céus, e para lá não tornam, mas regam a terra, e a fazem produzir, e brotar, e dar semente ao semeador, e pão ao que come,
Assim será a minha palavra, que sair da minha boca; ela não voltará para mim vazia, antes fará o que me apraz, e prosperará naquilo para que a enviei."

Livro de Isaías (400 a.C).

"...Quanto mais eu estudo a natureza, mais eu fico maravilhado com as obras do Criador. A ciência me aproxima de Deus"

Louis Pasteur, Pai da microbiologia (1822 – 1895)

RESUMO

O presente estudo visou avaliar a qualidade ambiental de alguns setores de praias atingidas pela contaminação de óleo ocorrida no ano de 2019 no litoral do estado de Alagoas, em uma região de alta relevância ecológica composta por estuários, praias, recifes de corais e manguezais que juntos formam a APA Costa dos Corais. Segundo dados da WWF Brasil, esta é a Unidade de Conservação com maior número de pontos de contaminação no nordeste do Brasil. Ações de mapeamento, coletas, análises ecotoxicológicas e análises químicas de amostras coletadas em 2019 estabeleceram uma visão holística dos impactos nos ecossistemas afetados. O método proposto para determinar a qualidade ambiental ofereceu resposta para duas questões importantes em estudos de avaliação da qualidade ambiental em sistemas aquáticos contaminados: Quais são os locais contaminados e os níveis dos contaminantes? Quais são os efeitos biológicos adversos no ecossistema? Os resultados denotam que a biota local foi impactada por um gradiente de ação contaminação por diversos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos que foram detectados na análise química do sedimento e em amostras de corais. Além disso, a intensidade do efeito tóxico de sítios específicos variou em relação aos locais e aos ensaios utilizados. Os organismos mais sensíveis foram os embriões de ouriço do mar e as regiões mais externas da APA exibiram maior efeito tóxico. Por se tratar de compostos mutagênicos de alto peso molecular, os quais representam grande potencial tóxico à vida marinha local e considerando o potencial risco de impacto em diversos níveis tróficos da biota marinha, recomenda-se que sejam articuladas ações de remediação, recuperação e monitoramento ambiental que busquem mitigar os potenciais impactos ambientais.

Palavras-Chave: Contaminação. Óleo. APA Costa dos Corais. Conservação.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the environmental quality of some sectors of beaches affected by oil contamination that occurred in 2019 on the coast of the state of Alagoas, in a region of high ecological relevance composed of estuaries, beaches, coral reefs and mangroves that together form the APA Costa dos Corais. According to data from WWF Brazil, this is the Conservation Unit with the highest number of contamination points in northeastern Brazil. Mapping actions, sampling, ecotoxicological analyzes and chemical analyzes of samples collected in 2019 established a holistic view of the impacts on the affected ecosystems. The proposed method for determining environmental quality provided an answer to two important questions in studies of environmental quality in contaminated aquatic systems: What are the contaminated sites and the levels of contaminants? What are the adverse biological effects on the ecosystem? The results show that the local biota was impacted by a gradient of contamination by several Polycyclic Aromatic Hydrocarbons that were detected in the sediment and coral samples. In addition, the intensity of the toxic effect of specific sites varied in relation to the sites and assays employed. The most sensitive organisms were sea urchin embryos, and the outermost regions of the APA exhibited the greatest toxic effect. As PAH are mutagenic compounds of high molecular weight, which represent high toxic potential to local marine life and, considering the potential risk of impact on different trophic levels, it is recommended that remediation, recovery and environmental monitoring actions be articulated to mitigate potential environmental impacts.

Keywords: Contamination. Oil. APA Costa dos Corais. Conservation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Pontos de coleta em 2019 na APA Costa dos Corais.....18
Figura 2. Preparação do ensaio embriolarval.....21
Figura 3. Aclimatação de sedimentos.....22
Figura 4. Porcentagem de desenvolvimento normal de larvas de *Echinometra lucunter*.....30
Figura 5. Índice de Fecundidade de *Nitokra sp*.....31
Figura 6. Índice de Fecundidade de *Tisbe Biminiensis*.....33
Figura 7. Gráfico dos Fatores 1 e 2 para o ponto Aiuia.....43
Figura 8. Gráfico dos Fatores 1 e 2 para o ponto Japaratinga.....43
Figura 9. Gráfico dos Fatores 1 e 2 para o ponto Barreira dos Boqueirões.....44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Coordenadas geográficas dos pontos onde foram realizadas as coletas para análises.....18
Tabela 2 - Valores dos Índices de desenvolvimento embriolarval observados nos bioensaios.....29
Tabela 3 – Resultados do ensaio de fecundidade com Nitokra sp.....30
Tabela 4 – Resultados do ensaio de fecundidade com Tisbe biminiensis.....32
Tabela 5 - Valores de HPAs nas amostras de água.....34
Tabela 6 - Valores de HPAs em amostras de sedimento.....35
Tabela 7 - Valores referência de HPAs utilizados em diversas normas.....36
Tabela 8 - Concentrações de HPAs em amostras de corais.....37
Tabela 9 - Concentrações de HPAs em amostras de corais.....38
Tabela 10 - Concentrações de HPAs em amostras de corais.....38
Tabela 11 - Concentrações de HPAs em amostras de corais.....39
Tabela 12 - Concentrações de HPAs em amostras de corais.....39
Tabela 13 - Matriz com os dados empregados na Análise de Fatores (AF).....40
Tabela 14 - Resultado extraído para cada componente principal (Autovalores).....41
Tabela 15 - Factor *Loadings* extraídos para cada um dos 2 Fatores principais.....42
Tabela 16 - Fatores 1 e 2 da análise fatorial para cada ponto.....42

LISTA DE ABREVIATURAS DE SIGLAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	- Análise de variância
APA	- Área de Proteção Ambiental
CCME	- Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente
CETESB	- Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
GC-MS	- Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas
HPA	- Hidrocarboneto Policíclico Aromático
ISO	- *International Organization for Standardization*
KCL	- Cloreto de Potássio
Mha	- *Mussismilia harttii*
Mhi	- *Mussismilia hispida*
mL	- Mililitro
mL.min-1	- Mililitros por minuto
NBR	- Norma Brasileira
ºC min-1	- Celsius por minuto
ºC	- Graus Celsius
µl	- Microlitro
µm	- Micrometros
OECD	- Cooperação Econômica e Desenvolvimento
ONG	- Organização Não Governamental
SED	- Sedimento
Ss	- *Siderastrea stellata*
Unisanta	- Universidade Santa Cecília
USEPA	- Agência de Proteção Ambiental Americana

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

1.2 OBJETIVOS 17

1.2.1 Objetivo Geral 17

1.2.2 Objetivos Específicos 17

2 MATERIAL E MÉTODOS 18

2.1 Desenho Experimental 18

2.2 Coletas 18

2.3 Testes de toxicidade 19

2.3.1 – Organismos teste - *Echinometra lucunter* 19

2.3.2 Teste de toxicidade na interface sedimento/água com embriões de *Echinometra lucunter* 20

2.3.3 – Organismos teste - copépodes 21

2.3.4 Teste de toxicidade com sedimento integral com copépodo *Nitokra sp.* 22

2.3.5 Teste de toxicidade com sedimento integral com *Tisbe biminiensis* 23

2.4 – Organismos coletados para análises de HPAs em tecidos - *Mussismilia harttii, Mussismilia hispida e Siderastrea stellata* 24

2.5 Análises Químicas dos Corais 25

2.6 Análises Químicas da Água 26

2.7 Análises químicas do sedimento 27

2.8 Análises estatísticas entre as áreas de estudo quanto ao efeito tóxico. 28

2.9 Análise Integrada dos resultados através do método de Análise de Componentes Principais (PCA) 28

3 RESULTADOS 30

3.1 Ensaios de desenvolvimento embriolarval de *Echinometra lucunter* com amostras de sedimento (fração interface sedimento-água)..... 30

3.2 Ensaio de fecundidade com *Nitokra sp*..... 31

3.3 Ensaios de fecundidade com *Tisbe biminiensis* 33

3.4 Resultados Análises Químicas 34

3.4.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos na Água 34

3.4.2 HPAs no sedimento..... 35

3.3.4 Análises Químicas de HPAs em Corais 37

3.5 Análise de Componentes Principais (PCA)..... 42

4 DISCUSSÃO 47

5 CONCLUSÃO..... 12

REFERÊNCIAS..... 513

APNDICE I - TRABALHO SUBMETIDO OU ACEITO PARA PUBLICAÇÃO 19

APÊNDICE II – Parâmetros da solução padrão de referência multicomponente para análise de sedimentos. 20

APÊNDICE III – Parâmetros da solução padrão de referência multicomponente para análise da água. 25

APÊNDICE IV – Parâmetros da solução padrão de referência multicomponente para análise de HPAs em Corais..... 30

1 INTRODUÇÃO

Em 2019, o Brasil viveu o maior desastre ambiental causado por vazamento de petróleo de sua história. As manchas de óleo começaram a ser registradas no litoral nordestino brasileiro em 30 de agosto. Desde então, mais de 877 localidades, em 127 municípios de onze estados já foram atingidos em uma área de costa superior a 2.200 quilômetros. Mais de 5.000 toneladas já foram retiradas da costa e diariamente são registrados novos relatos de praias atingidas, mostrando que o problema ainda persiste. Infelizmente, esse desastre soma-se a outros derramamentos de petróleo que impactaram ambientes marinhos, a título de comparação em 2010 ocorreu um grande vazamento de petróleo no golfo do México na plataforma de exploração Deepwater Horizon que liberou 585.000 toneladas de petróleo cru diretamente no ambiente marinho. Em 1991 estima-se que 820.000 toneladas de petróleo cru contaminaram a região do golfo pérsico causando grande impacto ambiental a biota marinha e em 1989 o navio petroleiro Exxon Valdez derramou aproximadamente 103.000 toneladas de petróleo cru na costa do estado americano do Alaska (Qingren et al., 2011).

No caso brasileiro, apesar de a substância ter sido identificada como petróleo cru, as autoridades brasileiras ainda não descobriram a origem, o responsável pelo despejo do material no mar e nem mesmo a quantidade de material que ainda pode atingir a costa ou o quanto já foi sedimentado no fundo do mar (LOURENÇO et al., 2020a).

Os efeitos da exposição ao petróleo podem impactar processos metabólicos, efeitos sobre o crescimento das espécies e desenvolvimento corporal durante as diversas fases do ciclo de vida e sobre a reprodução (VANDERMEULEN e CAPUZZO, 1983). Os desdobramentos desses efeitos potencialmente levam a déficits de alimentação, alta suscetibilidade a doenças e desordens histopatológicas (CAPUZZO, 1987).

Por causa deste grande potencial em impactar a biota, são importantes medidas que possam fornecer informações sobre o estado de saúde dos organismos que compõem aquele ambiente e avaliar medidas que possam auxiliar na remediação de impactos ecológicos que estão sujeitas as diversas populações daquele bioma. (ABBOT e GUIJT, 1999).

Esse desastre também comprometeu de forma substancial a saúde física e a sustentabilidade financeira das comunidades locais. Os voluntários têm arriscado sua saúde

ao enfrentarem o óleo, sem apoio e orientação do governo (SOARES *et al.,* 2020).

Além de danos ecológicos, o derramamento de óleo já causa impactos econômicos, na produção de pescados e frutos do mar, assim como na atividade turística. Ao menos 40% dos pontos com registros de óleo estão localizados em áreas protegidas que incluem 18 áreas de Proteção Ambiental (APA), dois parques nacionais e um parque municipal, um Refúgio de Vida Silvestre, uma Reserva Biológica e sete reservas extrativistas o que representa uma grande ameaça à biodiversidade brasileira (DE OLIVEIRA ESTEVO *et al.,* 2021).

Uma dessas unidades de conservação atingidas é a APA Costa dos Corais, que está inserida no complexo da Costa dos Corais, entre os estados de Pernambuco e Alagoas. A região cercada de rios, estuários, manguezais, restingas, recifes rasos e bancos de gramas marinhas, essenciais para a alimentação e proteção de várias espécies, configurando um grande *hotspot* da biodiversidade. Além disso, o complexo é reconhecido por ser a segunda maior barreira de corais em extensão o do mundo, a APA é a segunda maior área protegida marinha do Brasil e o principal santuário de peixes boi do país (SOUZA *et al.,* 2012).

A região foi uma das mais atingidas durante o recente derramamento de petróleo que atingiu grande parte do litoral. Regiões turísticas e pesqueiras importantes como Maragoggi, Japaratinga e São José da Coroa Grande foram afetadas em vários pontos (SOARES *et al.,* 2021).

Diante do exposto, considera-se uma região estratégica, onde a compreensão o dos impactos ambientais é de extrema importância para ações de mitigação, remediação, prevenção e monitoramento ambiental, bem como avalição dos possíveis riscos à saúde humana através do consumo de pescado contaminado.

Os ecossistemas localizados na APA possuem elevada produção biológica e diversidade de espécies e formas de vida. Essas áreas exercem função reguladora, servindo como “berçários” para abrigo e reprodução de centenas de espécies de peixes, aves, plantas, crustáceos, molusco e outros tipos de organismos.

A ecotoxicologia é uma área especializada da toxicologia ambiental que centra seus estudos nos efeitos ocasionados por agentes químicos e físicos sobre a dinâmica de populações e comunidades integrantes de ecossistemas definidos. Em meados de 1980, órgãos ambientais ao redor do mundo, tais como a Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA) e a Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento

(OECD), começam a desenvolver protocolos padrão para a utilização de organismos aquáticos em testes de toxicidade (MAGALHÃES e FILHO, 2008). No Brasil, ainda segundo os autores citados, os primeiros ensaios ecotoxicológicos, iniciaram em 1975 com Programa Internacional de Padronização de testes de toxicidade aguda com peixes, promovido pelo Comitê Técnico de Qualidade das Águas da *International Organization for Standardization* (ISO) com a presença da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

Assim, a ecotoxicologia aquática tem como objetivo avaliar o efeito de substâncias químicas tóxicas sobre organismos representativos do ecossistema aquático (COSTA *et al.,* 2008).

A utilização de invertebrados aquáticos em teste de toxicidade fornece um relevante suporte na determinação de impactos químicos ao meio ambiente, principalmente ao seu ciclo de vida característico e a alta sensibilidade apresentada nas primeiras fases de desenvolvimento (GOLDSTEIN *et al.,* 1990).

Ensaios de toxicidade, desenvolvidos em laboratório para espécies representativas dos ecossistemas costeiros tem sido os mais utilizados em estudos para avaliação da toxicidade de substâncias químicas, efluentes e águas superficiais. Esses ensaios podem ser classificados segundo os efeitos que os organismos-teste venham apresentar durante o tempo de exposição dos ensaios (COSTA, 2008).

Ensaios agudos costumam medir mortalidade ou imobilidade, enquanto ensaios crônicos avaliam condições fisiológicas ou comportamentais dos organismos testados, tais como reprodução, crescimento, consumo de oxigênio, alterações genéticas indicadoras de exposição ou efeito de poluentes.

Ao se avaliar a toxicidade de um poluente, o procedimento mais adequado é estudar seus efeitos sobre vários organismos representativos dos diferentes níveis tróficos. Porém, na impossibilidade de se realizar o trabalho com diferentes organismos, deve-se escolher, com cuidado, um bom organismo-teste. De acordo com Rand (1995) é necessário observar alguns princípios básicos ao selecionar uma espécie, tais como: a espécie deve ter sensibilidade constante e apurada, disponibilidade ao longo do ano e estabilidade genética. O presente trabalho avalia a hipótese de que o derramamento de petróleo ocorrido no ano de 2019 contaminou a água, sedimento e corais na região do município de Japaratinga que integra a APA Costa dos Corais, além de gerar toxicidade para organismos marinhos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

O presente estudo tem como objetivo avaliar a contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e efeitos tóxicos do derramamento de 2019 na região do município de Japaratinga (AL) na APA Costa dos Corais.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de água e sedimento coletados em 2019;
- Avaliar a contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de corais coletados em 2019;
- Avaliar a toxicidade crônica em amostras de sedimento integral com organismo *Nitokra sp.;*
- Avaliar a toxicidade crônica em amostras de sedimento integral com organismo *Tisbe biminiensis;*
- Avaliar a toxicidade crônica de curta duração do tratamento interface sedimento-água com organismos *Echinometra lucunter.*
- Avaliar a associação entre os contaminantes quantificados nas diferentes matrizes e a toxicidade do sedimento através de análise multivariada.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenho Experimental

Este estudo faz parte do Projeto CAPES ENTRE MARES # 88881.513949/2020-01, com vigência até 31/05/2023 e intitulado: Caracterização da qualidade ambiental de ecossistemas costeiros afetados por petróleo, com Instituição sede UNISANTA.

2.2 Coletas

A região litorânea que envolve a APA costa dos corais tem clima de acordo com a classificação de Köppen descrito como tropical chuvoso de monção (Ams‘) exibindo como característica também chuvas concentradas no inverno. Os níveis de precipitação variam de 1800 a 2000 mm. Adicionalmente ocorre uma faixa de maior umidade que se desloca ao sul caracterizando o clima quente e úmido (As’) tendo a ocorrência de chuvas de inverno antecipadas no outono que se estende pelo resto da costa alagoana (GÓES, 1979).

Amostras de água superficial e sedimento foram coletados em 3 pontos da APA Costa dos Corais no litoral do estado de Alagoas durante o mês de novembro de 2019 nos pontos correspondentes as coordenadas da tabela 1 e dos mapas da Figura 1.

Tabela 1 - Coordenadas geográficas dos pontos onde foram realizadas as coletas para análises

Coordenadas de amostragem		
Pontos	Latitude	Longitude
Auiua	9° 6'1.05"S	35°13'47.89"O
Japaratinga	9° 5'57.76"S	35°15'8.04"O
Barreira do Boqueirão	9° 7'49.54"S	35°16'6.45"O

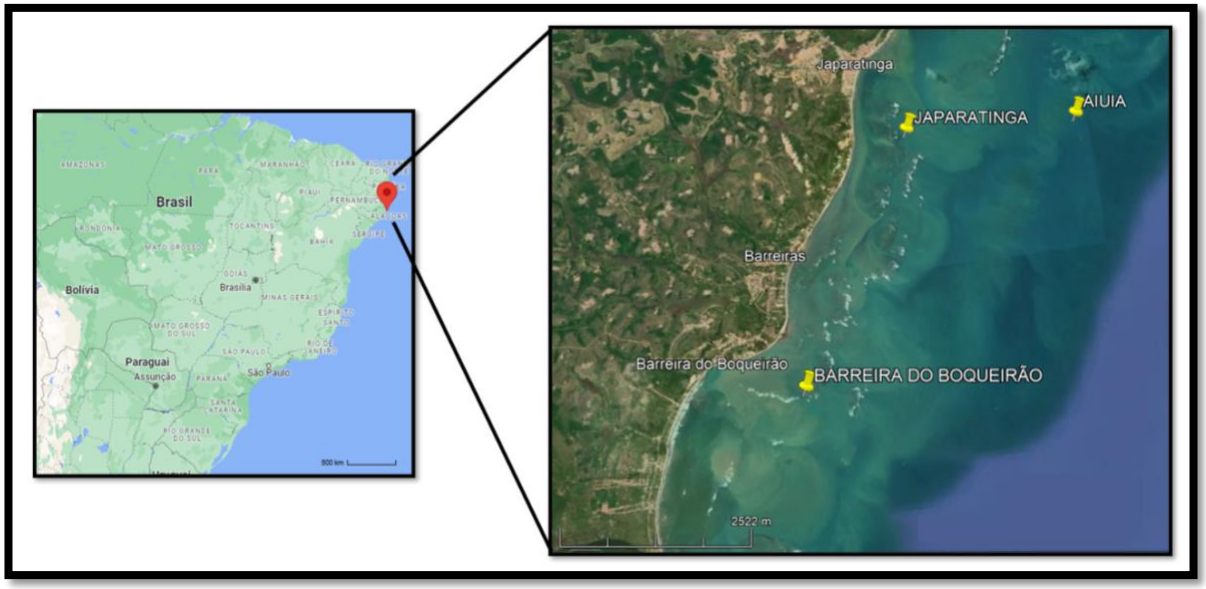


Figura 1. Pontos de coleta de amostras de água e sedimento no ano de 2019 na APA Costa dos Corais.

Para a coleta de água utilizou-se uma garrafa *van Dorn* de 2 Litros de capacidade. O amostrador de fundo é do tipo Van Veen, enquanto o óleo foi coletado diretamente da areia da praia utilizando pás. No momento da coleta as amostras foram refrigeradas e mantidas em caixas térmicas até a chegada no laboratório onde foram congeladas a - 20 °C até o momento das análises.

2.3 Testes de toxicidade

2.3.1 – Organismos teste - *Echinometra lucunter*

A classe Echinoidea tem aproximadamente 900 espécies descritas. Possuem uma distribuição que varia desde pequenas até grandes profundidades próximas a 5.000 metros (HADEL *et al*., 1999). De forma especifica, organismos da espécie E. *lucunter* costumam colonizar costões rochosos abrigando-se em fendas ou tocas que escavam no substrato rochoso e ocupam profundidades médias de até 45 metros (TOMMASI, 1966; HENDLER *et al*., 1995).

Estressores físicos do ambiente também pode exercer influência sobre as populações

de *Echinometra lucunter*, pois ambientes de alta energia podem induzir diferenças na estrutura corporal desses organismos como observaram Lewis e Storey (1984), os quais produziram carapaças com menor espessura, tamanho reduzido e baixa rugosidade em sua superfície e outras alterações estruturais que não são foram observadas na mesma espécie que habitava ambientes abrigados da ação das ondas.

2.3.2 Teste de toxicidade na interface sedimento/água com embriões de *Echinometra lucunter*

Ensaio para avaliação de efeito embriolarval com o ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* (ECHINODERMATA, ECHINOIDEA): O método de ensaio 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 (ABNT/NBR, 2020).

As amostras de interface sedimento-água foram preparadas utilizando uma membrana semipermeável fixada com um suporte circular estéril a altura de 1 cm da base do tubo de ensaio de 10 ml colocando-se uma parte de sedimento para quatro partes 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 voltagem em corrente alternada de 12 Volts. Após isso, é realizada a verificação de viabilidade dos óvulos analisando em microscópio a sua estrutura, a qual precisa apresentar formato redondo e tamanho regular. Após ser verificada a viabilidade dos ovos é realizada a fecundação deles utilizando os espermatozoides armazenados sob refrigeração, em seguida é realizada a contagem do número de óvulos fecundados que podem ser identificados através da observação da membrana de fecundação ao seu redor sendo que como padrão deve conter no mínimo 80% de ovos fecundados.

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

Em seguida, após a conclusão da montagem do teste é registrado o início do horário e são armazenados em uma câmera na temperatura de 25 ± 2 °C por períodos de 24 a 42 horas conforme a norma técnica (ABNT 2020).

Terminado esse processo, passadas 24 horas retira-se uma pequena alíquota para analisar partes da amostra entre algumas réplicas do controle para verificar o estágio de desenvolvimento de aproximadamente 50 embriões e então encerra-se o experimento se no mínimo 80% dos embriões alcançarem no estágio de desenvolvimento larval de equinopluteus bem desenvolvido.

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

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

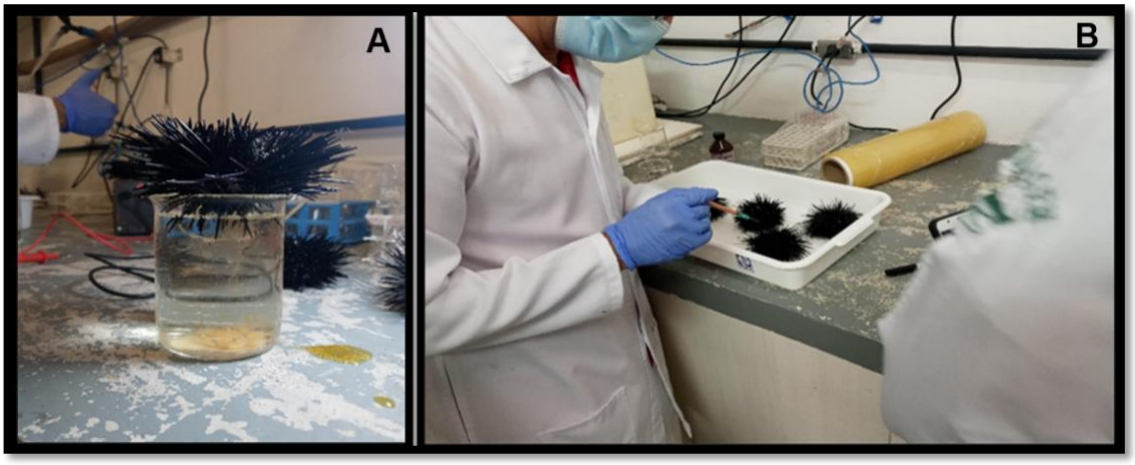


Figura 2 - Preparação do ensaio embriolarval. (A) Liberação de gametas pela fêmea. (B) injeção de solução salina de KCL para estimular contração muscular e liberação de gametas Fonte: Autor

2.3.3 – Organismos teste - copépodes

Organismos pertencentes a classe *copepoda* como *Nitokra sp* e *Tisbe Biminiensis* são considerados a maior classe de microcrustáceos tendo como habitat preferencial o ambiente

marinho apesar de existirem algumas espécies de água doce. Especificamente, os copépodes marinhos compõem a maioria do volume de plâncton marinho exibindo alta diversidade com mais de 10.000 espécies catalogadas (HAIRSTON e BOHONAK, 1998).

Além disso, estes organismos representam importante elo de ligação entre estratos da cadeia alimentar oceânica, pois se alimentam de fitoplâncton e são alimento para níveis tróficos superiores de muitas cadeias alimentares marinhas. Sua estrutura corporal é afilada da parte anterior para a posterior e possuem tronco composto de tórax e abdômen. Estes organismos exibem diferenciadas estratégias de caça e sobrevivência alternando sua permanência entre o sedimento e a coluna d´água, mas a principal influência sobre seu movimento vem da luz que orienta movimentações verticais diárias (RUPPERT, E. e BARNES, R.D., 1996).

A razão de tal movimentação se justifica pelo hábito de fugir de predadores evitando o espaço na coluna d'água onde predadores que se orientam visualmente como peixes ou insetos costumam forragear. Assim, evitando a superfície durante o dia algumas espécies de microcrustáceos se abrigam da luz distribuindo-se mais próximas ao fundo, sendo que a noite sua distribuição é normalizada tanto na superfície quanto em maiores profundidades (BRANDL, Z., 2005).

2.3.4 Teste de toxicidade com sedimento integral com copépodo *Nitokra sp.*

Para realização do teste, 6,5 gramas de sedimento homogeneizado foram colocados em *beckers* de volume final 25 ml e usadas 4 réplicas por amostra. Adicionou-se água do mar preparada com salinidade 17 até o volume de 15 ml cuidando-se para que causar menor perturbação possível no sedimento e armazenado por 24 horas para aclimatação como mostra a Figura 3.

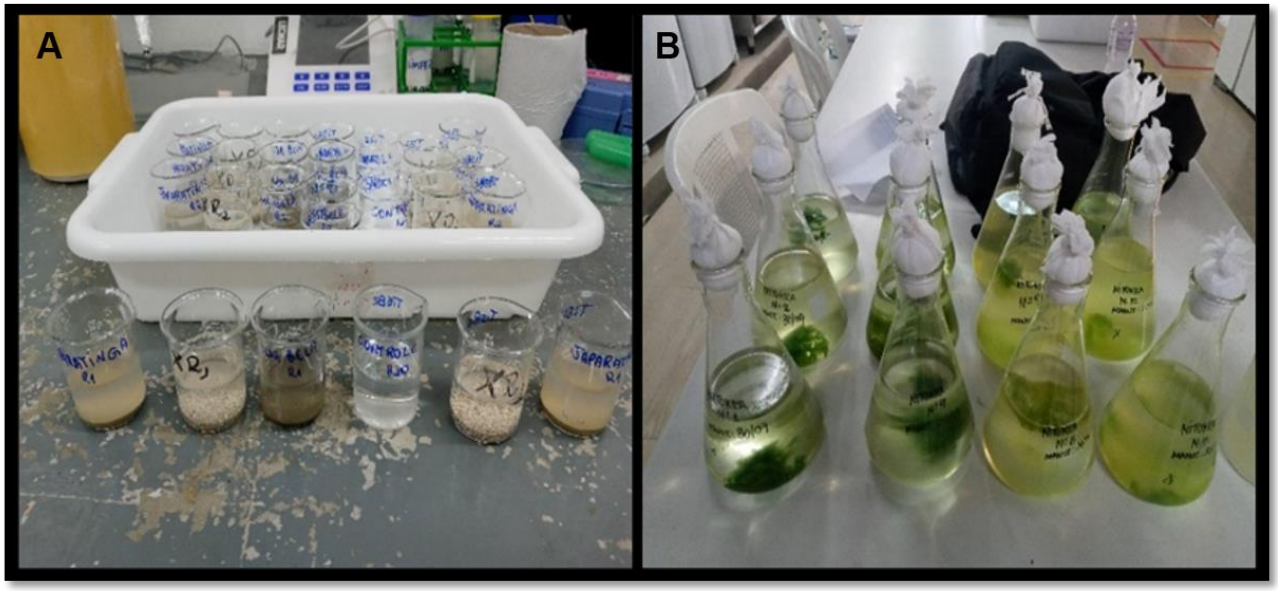


Figura 3 - Aclimatação de sedimentos em grupos (A). Seleção de cultivos de organismos *Nitokra sp*. (B) Fonte: Autor.

Após cumprido o período de aclimatação, foram selecionadas 7 fêmeas ovadas obtidas do cultivo de *Nitokra sp* utilizando pipeta Pasteur e Lupa. Além de introduzir os copépodes no *beckers* 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 ºC e com fotoperíodo automático por 5 dias.

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

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

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

2.3.5 Teste de toxicidade com sedimento integral com *Tisbe biminiensis*

Para realização do teste, 6,5 gramas de sedimento homogeneizado foram colocados em *beckers* de volume final 25 ml e usadas 4 réplicas por amostra. Adicionou-se água do mar preparada com salinidade 17 até o volume de 15 ml cuidando-se para que causar menor perturbação possível no sedimento e armazenado por 24 horas para aclimatação.

Após cumprido o período de aclimatação, foram selecionadas 7 fêmeas ovadas obtidas do cultivo utilizando pipeta Pasteur e Lupa. Além de condicionar os copépodes 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 ºC e com fotoperíodo automático por 5 dias.

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

A separação dos indivíduos foi realizada utilizando peneiramento de frações do sedimento com malha de 45 µm e pisseta com água.

Após a contagem é calculado o índice de fecundidade como mostra a fórmula abaixo:

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

2.4 – Organismos coletados para análises de HPAs em tecidos - *Mussismilia harttii, Mussismilia hispida e Siderastrea stellata*

A classe *Anthozoa* é formada por organismos que incluem os corais e anêmonas do mar sendo uma classe contendo mais de 6000 espécies catalogadas. Essas espécies têm uma vida inteiramente séssil constituindo os corais agrupando-se em colônias ou de forma solitária com corpo estruturalmente feito de esqueletos minerais ou proteicos (Daly *et al*., 2007).

Os corais possuem dentre suas necessidades fisiológicas habitar locais com a coluna d'água possuindo altos índices de transparência para que a luz solar possa penetrar e ser absorvido pelas algas que habitam seus tecidos, além de ter crescimento ótimo em faixas de temperatura entre 26º ºC e 28 ºC (BARNES *et al*., 2005).

As espécies de corais que constroem recifes, são corais hermatípicos que são conhecidos como sendo corais de estrutura rígida ou pétrea e que possuem em sua constituição um esqueleto formado por carbonato de cálcio. Também possuem as algas simbiontes que trocam com eles oxigênio e carbono por nutrientes como nitrogênio, fósforo e dióxido de carbono usados como substrato para a fotossíntese dentro das algas. Entre as espécies hermatípicos da Costa Brasileira estão presentes as espécies *Montastraea cavernosa, Missismilia harttii, Mussismilia hispida e a Siderastrea stellata* (PEREIRA, 2014).

2.5 Análises Químicas dos Corais

Para a separação, identificação e quantificação dos HPA foi utilizada a técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), conforme (BRAGA *et al*., 2018; DAL PONTE *et al.,* 2019). Visando maior seletividade e detectabilidade os analitos foram quantificados utilizando o monitoramento seletivo de íons (SIM), mostrados na Tabela 1 do Apêndice III.

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 1,20 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 ºC, sem pulso de pressão e tempo de amostragem de 4 min. A coluna cromatográfica, inicialmente, foi mantida em 50 ºC por 5 min, seguida por aquecimento a 5 ºC min- 1 até 230 ºC, gradiente 2 ºC min-1 até 250 ºC e finalmente rampa a 5 ºC min-1 até 300 ºC, mantida por 8 min. A linha de transferência e fonte de íons foram operados em 280 e 230 ºC, respectivamente.

As curvas analíticas instrumentais foram preparadas a partir de uma solução padrão de referência multicomponente contendo os 16 HPA, em concentração de 80 mg L-1 (Merck, Alemanha). Cada curva foi elaborada a partir de oito níveis de concentração, variando entre 10 a 294 µg/L. Na Tabela 2 do Apêndice III são apresentados os fatores de correlação para cada analito (16 HPA) e os 5 padrões surrogates.

O método de dispersão de matriz em fase sólida (MSPD) conforme (HAN *et al.,* 2020, ANGULO-CUERO *et al*., 2021) foi empregado para o preparo das amostras. Para tal, os recifes de corais foram congelados (-27 ºC por 24 h) e liofilizados durante 48 h. Após a

liofilização, os sólidos secos foram homogeneizados em almofariz, transferidos para frascos de vidro âmbar e armazenados em freezer. Empregando balança analítica (± 0,01 mg) foram pesados, aproximadamente, 500 mg de amostra e a mesma massa de sílica funcionalizada com octadecilsilano (C18), os quais foram colocados em almofariz de porcelana. Nessa mistura foi feita a fortificação com 100 µL de solução de 5 HPA deuterados (surrogates) em concentração de 1000 µg/L. Ao final da evaporação do solvente foi realizada a maceração, até granulometria e coloração uniformes. A mistura resultante foi transferida para o topo de uma coluna cromatográfica de vidro (comprimento x diâmetro interno = 35 x 0,7 cm). A coluna foi preparada, de baixo para cima, com um chumaço de lá de vidro, 2 g de sílica ativada, 1 g de florisil, 1 g de alumina, previamente calcinados em mufla a 400 ºC por 4 h a ativados em estufa a 160 ºC por 12 h. A eluição dos analitos foi realizada com fluxo de nitrogênio (99,998 %) e 10 mL de diclorometano, dos quais foram coletados 8 mL na parte inferior da coluna. Os eluatos foram evaporados em evaporador rotativo a vácuo, durante 90 min (30 ºC) e ressolubilizados em 0,30 mL de solução contendo p-terfenilD14 em concentração 100 µg/L em meio de diclorometano. Finalmente, alíquotas dos extratos foram transferidos para inserts de vidro (250 µL) e quantificados por GC-MS.

2.6 Análises Químicas da Água

As quantificações foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu QP-2010 acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo modelo TQ-8040. Para a separação, identificação e quantificação dos HPA foi utilizada a técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), conforme literatura (BRAGA *et al.,* 2018; DAL PONTE *et al.,* 2019). O sistema GC-MS foi operado utilizando Hélio de alta pureza (99,999 %) como gás de arraste, em vazão de 1,20 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 ºC, sem pulso de pressão e tempo de amostragem de 4 min. A coluna cromatográfica, inicialmente, foi mantida em 50 ºC por 5 min, seguida por aquecimento a 5 ºC min-1 até 230 ºC, gradiente 2 ºC min-1 até 250 ºC e finalmente rampa a 5 ºC min-1 até 300 ºC, mantida por 8 min. A linha de transferência e fonte de íons foram operados em 280 e 230 ºC, respectivamente. Visando maior seletividade e detectabilidade os analitos foram quantificados utilizando o monitoramento seletivo de íons

(SIM), mostrados na Tabela 1 do Apêndice II.

As curvas analíticas foram preparadas a partir de uma solução padrão de referência multicomponente contendo os 16 HPA em concentração de 80 mg L-1 (Merck, Alemanha), nas faixas de concentração de 10 a 2000 ng L- 1, de 10 a 800 µg L-1 e 10 a 400 µg L-1 e em meio aquoso contendo acetona 4% (v/v). As curvas analíticas apresentaram fatores de correlação de 0,99 para os 16 analitos, conforme a Tabela 2 e gráficos do Apêndice II.

2.7 Análises químicas do sedimento

As quantificações foram realizadas em cromatógrafo a gás Shimadzu QP-2010 acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo modelo TQ-8040. Para a separação, identificação e quantificação dos HPA foi utilizada a técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), conforme literatura (BRAGA *et al.,* 2018; DAL PONTE *et al.,* 2019). O sistema GC-MS foi operado utilizando Hélio de alta pureza (99,999 %) como gás de arraste, em vazão de 1,20 mL.min-1. Padrões analíticos e amostras foram injetados em volume de 1 µL, em modo splitless, com o injetor em 270 ºC, sem pulso de pressão e tempo de amostragem de 4 min. A coluna cromatográfica, inicialmente, foi mantida em 50 ºC por 5 min, seguida por aquecimento a 5 ºC min-1 até 230 ºC, gradiente 2 ºC min-1 até 250 ºC e finalmente rampa a 5 ºC min-1 até 300 ºC, mantida por 8 min. A linha de transferência e fonte de íons foram operados em 280 e 230 ºC, respectivamente. Visando maior seletividade e detectabilidade os analitos foram quantificados utilizando o monitoramento seletivo de íons (SIM) mostrados na tabela 1 do Apêndice I.

As curvas analíticas foram preparadas a partir de uma solução padrão de referência multicomponente contendo os 16 HPAs em concentração de 80 mg L-1 (Merck, Alemanha), nas faixas de concentração de 10 a 2000 ng L-1, de 10 a 800 µg L-1 e 10 a 400 µg L-1 e em meio aquoso contendo acetona 4% (v/v).

As curvas analíticas apresentaram fatores de correlação de 0,99 para os 16 analitos, conforme a Tabela 2 do Apêndice I e as curvas analíticas apresentadas no Apêndice I.

2.8 Análises estatísticas entre as áreas de estudo quanto ao efeito tóxico.

Os conjuntos de dados foram submetidos à avaliação de normalidade pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov* e homoscedasticidade pelo teste de *Bartlett*, utilizando também o *Software GraphPad Prism*®. Sendo confirmada distribuição normal e a homogeneidade de variância, os resultados dos testes de toxicidade obtidos em cada tratamento foram comparados com os respectivos controles, por análise de variância (ANOVA) e pós hoc de Dunnett. Assim, foram determinadas as amostras Tóxicas ($p< 0,05$) ou Não Tóxicas ($p>0,05$).

2.9 Análise Integrada dos resultados através do método de Análise de Componentes Principais (PCA)

Os dados também foram avaliados empregando-se o método de Análise de Componentes Principais (PCA) como procedimento de extração a fim de explorar a distribuição das variáveis. O conjunto de dados originais considerou 2 parâmetros de contaminação em sedimentos (*Chrysene* SED [ng/g], Benz[a]anthracene SED [ng/g]), 3 parâmetros ecotoxicológicos (reprodução de Nytokra, reprodução de Tisbe e desenvolvimento embriolarval de *E. lucunter*) e 24 parâmetros de contaminação em Corais (Naphthalene Mha, Acenaphthene Mha, Phenanthrene Mha, Fluoranthene Mha, Pyrene Mha, Benz[a]anthracene Mha, Benzo[b]fluoranthene Mha, Benzo[a]pyrene Mha, Indeno[1,2,3-cd]pyrene Mha, Dibenz[a,h]anthracene Mha, Acenaphthene Mhi, Phenanthrene Mhi, Benz[a]anthracene Mhi, Benzo[b]fluoranthene Mhi, Benzo[a]pyrene Mhi, Indeno[1,2,3-cd]pyrene Mhi, Dibenz[a,h]anthracene Mhi, Acenaphthene Ss, Phenanthrene Ss, Benz[a]anthracene Ss, Benzo[b]fluoranthene Ss, Benzo[a]pyrene Ss, Indeno[1,2,3-cd]pyrene Ss, Dibenz[a,h]anthracene Ss). A Análise de Fatores (AF) foi realizada a partir de uma matriz de correlação, na qual as variáveis foram auto-escaladas empregando o procedimento *varimax normalized*. Todas as análises foram realizadas utilizando a opção MULTIVARIATE EXPLORATORY TECHNIQUES seguido pela Análise de Fatores do software STATISTICA® versão 13.5.0.17 (TIBCO Software Inc., *Frankfurt am Main, Germany*). Foram extraídos os fatores principais utilizando-se o critério de Kaiser, no qual são considerados os autovalores (*eigenvalues*) acima de 1,0. O nível de corte para selecionar as variáveis incluídas nestes fatores (*loadings*) foi de 0,45; conforme proposto por Tabachinic

& Fidell (1996).

3 RESULTADOS

3.1 Ensaios de desenvolvimento embriolarval de *Echinometra lucunter* com amostras de sedimento (fração interface sedimento-água).

Os resultados do ensaio de desenvolvimento embriolarval com organismos expostos à fração sedimento-água estão apresentados na tabela 2 e na figura 4 abaixo. O local Barreira do boqueirão apresenta os menos índices de desenvolvimento (média 4,5) seguido de Barreira do boqueirão (média 4,5).

Tabela 2 - Valores dos Índices de desenvolvimento embriolarval observados nos bioensaios.

Locais	Réplicas				Média	Desvio Padrão
	1	2	3	4		
Controle	95	90	92	91	92	2,160246899
Aiuia	0	0	0	18	4,5	9
Japaratinga	25	28	16	27	24	5,477225575
Barreira do boqueirão	0	12	0	0	3	6

O local Controle apresentou maiores valores de índice de desenvolvimento embriolarval todos eles acima de 80% como mostra a figura 4 abaixo.

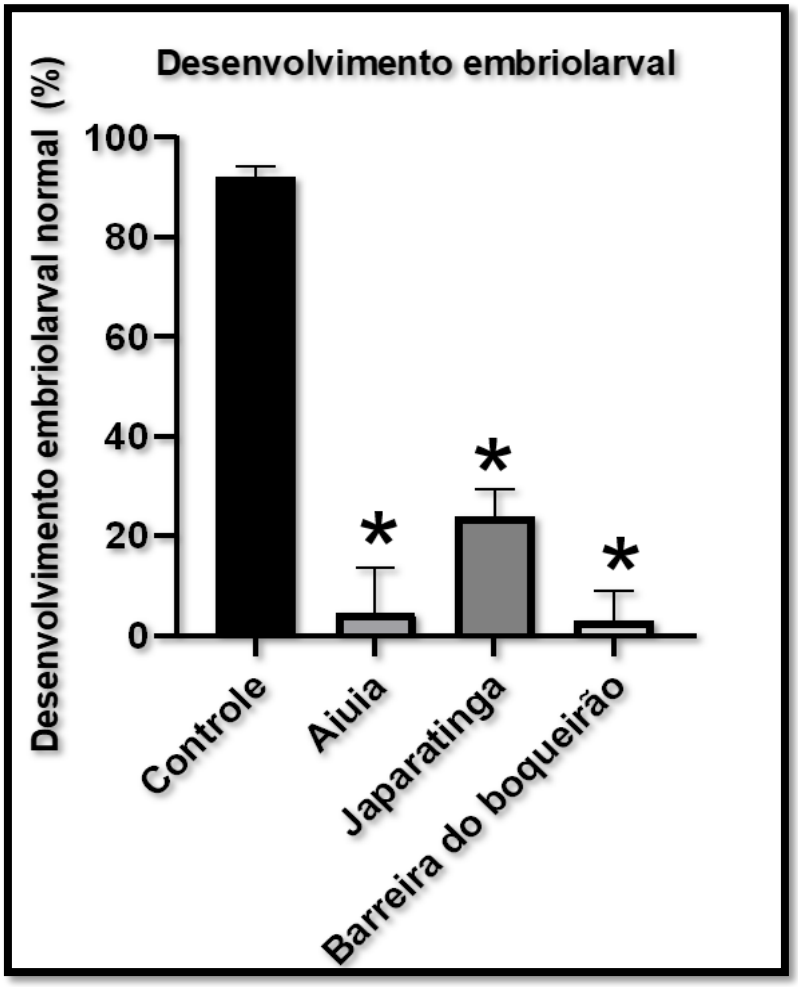


Figura 4. Porcentagem de desenvolvimento normal de larvas de *Echinometra lucunter* em testes com sedimentos coletados na APA Costa dos Corais no ano de 2019.

3.2 Ensaio de fecundidade com *Nitokra sp*.

Os resultados do teste de toxicidade crônica com organismo *Nitokra sp*. estão na tabela 3. Não foram observados valores significativos de toxicidade em nenhuma amostra.

Tabela 3 - Resultados do ensaio de fecundidade com *Nitokra sp*

Locais	Réplicas				Média	Desvio Padrão
	1	2	3	4		
Ilha Bela (Controle)	5,6	8,3	7,7	11,5	8,3	2,4
Aiuia	6,8	8,1	6,5	5,5	6,7	1,0

Japaratinga	4,8	9,0	6,0	8,0	6,9	1,8
Barreira do Boqueirão	7,6	5,6	4,7	7,6	6,4	1,4

Todos os locais submetidos ao teste não exibiram toxicidade significativos, como demonstra a figura 5.

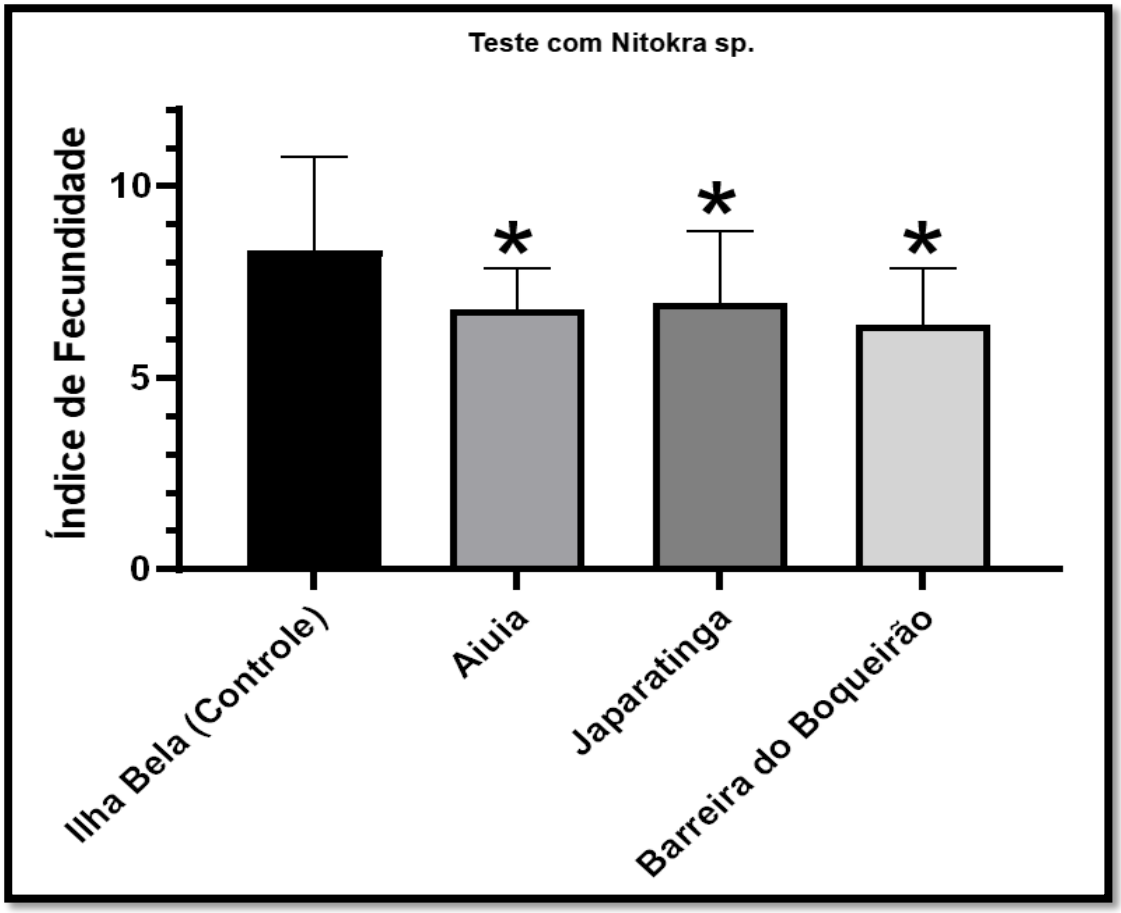


Figura 5 - Índice de Fecundidade de *Nitokra sp* em bioensaios utilizando sedimentos coletados na APA Costa dos Corais no ano de 2019.

3.3 Ensaios de fecundidade com *Tisbe biminiensis*

Os resultados do teste de toxicidade crônica com organismo *Tisbe biminiensis* estão na tabela 4. Foram observados efeitos tóxicos em todas as amostras.

Tabela 4 - Resultados do ensaio de fecundidade com *Tisbe biminiensis*

Locais	Réplicas				Média	Desvio Padrão
	1	2	3	4		
Ilha Bela (Controle)	55,6	56,0	44,8	67,2	55,9	9,1
Aiuia	36,6	0,8	17,8	28,0	20,8	15,3
Japaratinga	10,2	16,4	2,4	16,2	11,3	6,5
Barreira do Boqueirão	3,4	10,6	11,0	4,6	7,4	3,9

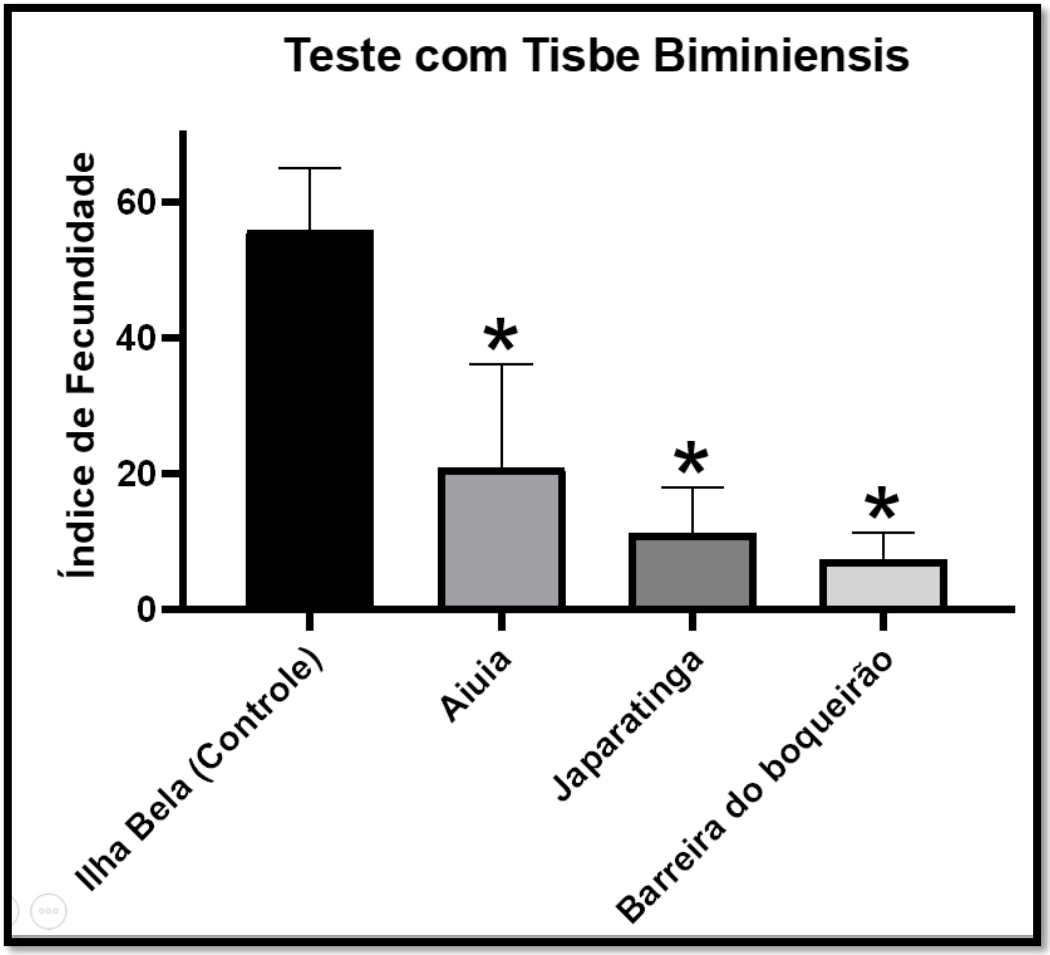


Figura 6 - Índice de Fecundidade de *Tisbe biminiensis* em bioensaios utilizando sedimentos coletados na APA Costa dos Corais no ano de 2019.

3.4 Resultados Análises Químicas

3.4.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos na Água

Os resultados das análises químicas das amostras de água estão apresentados na Tabela 5. Os valores de HPAs estão abaixo do limite de detecção em todas as amostras.

Tabela 5 - Valores das concentrações dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) em amostras de água coletas nos locais afetados (Aiuia, Japaratinga e Barreira dos Boqueirões) pela chegada das manchas de óleo na APA Costa dos Corais no ano de 2019.

Concentração (ng/L)	**Água Japaratinga**		
	Aiuia	Japaratinga	Barreira dos Boqueirões
Naphthalene	<10	<10	<10
Acenaphthylene	<10	<10	<10
Acenaphthene	<10	<10	<10
Fluorene	<10	<10	<10
Phenanthrene	<10	<10	<10
Anthracene	<10	<10	<10
Fluoranthene	<10	<10	<10
Pyrene	<10	<10	<10
Chrysene	<10	<10	<10
Benz[a]anthracene	<10	<10	<10
Benzo[b]fluoranthene	<10	<10	<10
Benzo[k]fluoranthene	<10	<10	<10
Benzo[a]pyrene	<10	<10	<10
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	<10	<10	<10
Dibenz[a,h]anthracene	<10	<10	<10
Benzo[ghi]perylene	<10	<10	<10

3.4.2 HPAs no sedimento

Os resultados das análises químicas das amostras de sedimento estão apresentados na Tabela 6 abaixo. A maioria dos valores dos compostos de HPAs nesta análise estão abaixo do limite de quantificação, todavia foram identificados e quantificados os HPAs: Crysene em concentrações de 22,7 ng/g, 17,6 ng/g, 12,1 ng/g nos Pontos Aiuia, Japaratinga e Barreira do Boqueirão respectivamente e também o composto Benz[a]anthracene em concentrações de 16,7 ng/g, 19 ng/g e <12,0 ng/g nos Pontos Aiuia, Japaratinga e Barreira do Boqueirão respectivamente.

Tabela 6 - Valores das concentrações dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em amostras de sedimento coletados nos locais afetados (Aiuia, Japaratinga e Barreira dos Boqueirão) pela chegada das manchas de óleo na APA Costa dos Corais.

Concentração de HPAs (ng/g)			
HPAs	**Pontos**		
	Aiuia	**Japaratinga**	**Barreira do Boqueirão**
Naphthalene	<12,0	<12,0	<12,0
Acenaphthylene	<12,0	<12,0	<12,0
Acenaphthene	<12,0	<12,0	<12,0
Fluorene	<12,0	<12,0	<12,0
Phenanthrene	<12,0	<12,0	<12,0
Anthracene	<12,0	<12,0	<12,0
Fluoranthene	<12,0	<12,0	<12,0
Pyrene	<12,0	<12,0	<12,0
Chrysene	22,7	17,6	12,1
Benz[a]anthracene	16,7	19,0	<12,0
Benzo[b]fluoranthene	<12,0	<12,0	<12,0
Benzo[k]fluoranthene	<12,0	<12,0	<12,0
Benzo[a]pyrene	<12,0	<12,0	<12,0
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	<12,0	<12,0	<12,0
Dibenz[a,h]anthracene	<12,0	<12,0	<12,0
Benzo[ghi]perylene	<12,0	<12,0	<12,0

Tabela 7 - Valores limite de HPAs utilizados como referência em normas nacionais e internacionais sobre a qualidade de sedimentos.

	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 PAHs	—	—	—	197	1500

3.3.4 Análises Químicas de HPAs em Corais

Os resultados das análises químicas das amostras de Recifes de Corais estão nas tabelas 8 a 12. Houve detecção de HPAs em amostras de Aiuia, Japaratinga e Barra do Boqueirão.

Tabela 8 - Concentrações de HPAs em amostras de corais das espécies *Mussismilia harttii, Siderastrea stellata, Mussismilia hispida.*

Setor Aiuia - Concentração determinada (ng/g)						
Composto	*MUSSISMILIA HARTTII 1*	*MUSSISMILIA HARTTII 2*	*SIDERASTREA STELLATA 1*	*SIDERASTREA STELLATA 2*	*MUSSISMILIA HISPIDA 1*	*MUSSISMILIA HISPIDA 2*
Naphthalene	18,7	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthylene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthene	**77**	**78,8**	**93,9**	**95,2**	**64,4**	**56**
Fluorene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Phenanthrene	**61,8**	**56**	**28,1**	**24,6**	**10,6**	<5,0
Anthracene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluoranthene	**10,2**	**8,8**	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Pyrene	**19,5**	**24,7**	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benz[a]anthracene	**19,5**	**20,2**	**12,9**	**8,6**	**11**	**11,6**
Chrysene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[b]fluoranthene	**22,1**	**12,9**	**9,5**	**12**	**25,1**	<5,0
Benzo[k]fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[a]pyrene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	**7,5**	**12,3**	**7,6**	<7,5	**11,8**	<7,5
Dibenz[a,h]anthracene	<7,5	<7,5	<7,5	**140,1**	<7,5	<7,5
Benzo[ghi]perylene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5

Tabela 9 - Concentrações de HPAs em amostras de corais das espécies *Mussismilia hispida, Montastraea cavernosa*

Setor Barra do Boqueirão - Concentração determinada (ng/g)				
Composto	*MUSSISMILIA HISPIDA 1*	*MUSSISMILIA HISPIDA 2*	*MONTASTRAEA CAVERNOSA 1*	*MONTASTRAEA CAVERNOSA 2*
Naphthalene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthylene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluorene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Phenanthrene	**12**	**7,7**	**9,6**	**7,1**
Anthracene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Pyrene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benz[a]anthracene	7,7	<7,5	<7,5	<7,5
Chrysene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[b]fluoranthene	<5,0	**8,1**	<5,0	<5,0
Benzo[k]fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[a]pyrene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5
Dibenz[a,h]anthracene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5
Benzo[ghi]perylene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5

Tabela 10 - Concentrações de HPAs em amostras de corais das espécies *Mussismilia harttii*, *Siderastrea stellata*

Setor Barra do Boqueirão - Concentração determinada (ng/g)			
SIDERASTREA STELLATA 2	*MUSSISMILIA HARTTII 1*	*MUSSISMILIA HARTTII 2*	*SIDERASTREA STELLATA 1*
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
12,3	**6,5**	<5,0	**8,9**
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<7,5	<7,5	**7,8**	<7,5
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<5,0	<5,0	**10,8**	<5,0
<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<5,0	<5,0	<5,0	7,1
<7,5	<7,5	**7,5**	<7,5
<7,5	**29,7**	**28,9**	<7,5
<7,5	<7,5	<7,5	<7,5

Tabela 11 - Concentrações de HPAs em amostras de corais das espécies *Mussismilia harttii, Siderastrea stellata*

Setor Japaratinga - Concentração determinada (ng/g)				
Composto	*MUSSISMILIA HARTTII 1*	*MUSSISMILIA HARTTII 2*	*SIDERASTREA STELLATA 1*	*SIDERASTREA STELLATA 2*
Naphthalene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthylene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluorene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Phenanthrene	<5,0	**8,4**	<5,0	**8,8**
Anthracene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Pyrene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benz[a]anthracene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Chrysene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[b]fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[k]fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[a]pyrene	<7,5	**26,8**	<7,5	**22,2**
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5
Dibenz[a,h]anthracene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5
Benzo[ghi]perylene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5

Tabela 12 - Concentrações de HPAs em amostras de corais das espécies *Mussismilia hispida*, *Montastraea cavernosa*

Setor Japaratinga - Concentração determinada (ng/g)				
Composto	*MUSSISMILIA HISPIDA 1*	*MUSSISMILIA HISPIDA 2*	*MONTASTRAEA CAVERNOSA 1*	*MONTASTRAEA CAVERNOSA 2*
Naphthalene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthylene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Acenaphthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluorene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Phenanthrene	<5,0	**12,7**	<5,0	**9,5**
Anthracene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Pyrene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benz[a]anthracene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Chrysene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[b]fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[k]fluoranthene	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
Benzo[a]pyrene	<7,5	**29,3**	<7,5	<7,5
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	<7,5	**7,7**	<7,5	<7,5
Dibenz[a,h]anthracene	<7,5	**37,9**	<7,5	<7,5
Benzo[ghi]perylene	<7,5	<7,5	<7,5	<7,5

3.5 Análise de Componentes Principais (PCA)

O conjunto de dados originais considerou 2 parâmetros de contaminação em sedimentos (SED), ensaios ecotoxicológicos (Organismo) e parâmetros de contaminação em Corais (Iniciais da espécie), conforme Tabela 13.

Tabela 13 - Matriz com os dados empregados na Análise de Fatores (AF).

Variáveis	Aiuia	Japaratinga	Barreira dos boqueirões
Criseno SED	22,7	17,6	12,1
Benz[a]antraceno SED	16,7	19	11,9
Naftaleno Mha	18,7	0	0
Acenafteno Mha	77,9	0	0
Fenantreno Mha	58,9	8,4	6,5
Fluoranteno Mha	9,5	0	0
Pireno Mha	22,1	0	0
Benz[a]antraceno Mha	19,85	0	7,8
Benzo[b]fluoranteno Mha	17,5	0	10,8
Benzo[a]pireno Mha	0	26,8	0
Indeno[1,2,3-cd]pireno Mha	9,9	0	7,5
Dibenzo[a,h]antraceno Mha	0	0	29,3
Acenafteno Mhi	60,2	0	0
Fenantreno Mhi	10,6	12,7	9,85
Benz[a]antraceno Mhi	11,3	0	7,7
Benzo[b]fluoranteno Mhi	25,1	0	8,1
Benzo[a]pireno Mhi	0	29,3	0
Indeno[1,2,3-cd]pireno Mhi	11,8	7,7	0
Dibenzo[a,h]antraceno Mhi	0	37,9	0
Acenafteno Ss	94,55	0	0
Fenantreno Ss	26,35	8,8	12,3
Benzo[a]antraceno Ss	10,75	0	0
Benzo[b]fluoranteno Ss	10,75	0	0
Benzo[a]pireno Ss	0	22,2	7,1
Indeno[1,2,3-cd]pireno Ss	7,6	0	0
Dibenzo[a,h]antraceno Ss	140,1	0	0
Nytokra sp.	6,78	6,95	6,40
Tisbe biminiensis	20,8	11,3	7,4
E. lucunter	4,5	24	3

Através da Análise de Componentes Principais, os dados de contaminação nos sedimentos, contaminação nos corais, índice de fecundidade e porcentagem de desenvolvimento normal obtidos foram representados por 2 fatores principais (Tabela 14), os quais representaram 100 % da variância total do conjunto inicial de dados.

Cada fator está descrito a seguir conforme o grupo de variáveis associadas.

O primeiro fator (Fator 1) é predominante e representa 69,62% da variância total dos dados; a este fator estão associados de forma significativa as contaminações de: Criseno SED, Naftaleno Mha, Acenafteno Mha, Fenantreno Mha, Fluoranteno Mha, Pireneno Mha, Benzo[a]antraceno Mha, Benzo[b]fluoranteno Mha, Indeno[1,2,3-cd]pireno Mha, Dibenz[a,h]antraceno Mha, Acenafteno Mhi, Benz[a]antraceno Mhi, Benzo[b]fluoranteno Mhi, Indeno[1,2,3-cd]pireno Mhi, Acenafteno Ss, Fenantreno Ss, Benzo[a]antraceno Ss, Benzo[b]fluoranteno Ss, Indeno[1,2,3-cd]pireno Ss, Dibenz[a,h]antraceno Ss, reprodução de *Tisbe biminiensis*. O fator 1 é representativo para o local Aiuia, o qual apresenta Score positivo, como indica a figura 7 e as Tabelas 14 e 16.

O segundo fator (Fator 2) representa 30,37% da variância total dos dados e a este fator estão associados: a contaminação por Benzo[a]antraceno Mha, Benzo[b]fluoranteno Mha, Indeno[1,2,3-cd]pireno Mha, Dibenzo[a,h]antraceno Mha, Benzo[a]antraceno Mhi, Benzo[a]fluoranteno Mhi. O fator 2 é representativo para Aiuia e Barreira dos boqueirões com Scores positivos e para Japaratinga com Score negativo associado à contaminação de Benzo[a]antraceno SED, Benzo[a]pireno Mha, Fenantreno Mhi, Benzo[a]pireno Mhi, Indeno[1,2,3-cd]pireno Mhi, Dibenz[a,h]antraceno Mhi, Benzo[a]pireno Ss, e reprodução de *Nytokra sp* e desenvolvimento embriolarval de *E. lucunter*. Esses resultados são apresentados nas Figura 8 e figura 9 e nas tabelas 14 e 16.

Tabela 14 - Resultado extraído para cada componente principal (Autovalores).

Fator	Autovalores	% Total da variância	Autovalores acumulados	% Acumulada
1	20,19036555	69,62195016	20,19036555	69,62195016
2	8,809634455	30,37804984	29	100

Tabela 15 - Factor *Loadings* extraídos para cada um dos 2 Fatores principais.

Variáveis	Factor Loadings . Extração: Componentes Principais (Valores > 0,45)	
	Fator 1	Fator 2
Criseno SED	0,94361	---
Benzo[a]antraceno SED	---	-0,91771
Naftaleno Mha	0,97845	---
Acenafteno Mha	0,97845	---
Fenantreno Mha	0,98455	---
Fluoranteno Mha	0,97845	---
Pireneu Mha	0,97845	---
Benzo[a]antraceno Mha	0,82046	0,57170
Benzo[b]fluoranteno Mha	0,64787	0,76175
Benzo[a]pireno Mha	---	-0,95060
Indeno[1,2,3-cd]pireno Mha	0,52281	0,85245
Dibenzo[a,h]antraceno Mha	-0,66804	0,74413
Acenafteno Mhi	0,97845	---
Fenantreno Mhi	---	-0,99826
Benz[a]antraceno Mhi	0,59135	0,80641
Benz[a]fluoranteno Mhi	0,86299	0,50522
Benzo[a]pireno Mhi	---	-0,95060
Indeno[1,2,3-cd]pireno Mhi	0,88234	-0,47061
Dibenzo[a,h]antraceno Mhi	---	-0,95060
Acenafteno Ss	0,97845	---
Fenantreno Ss	0,92203	---
Benzo[a]antraceno Ss	0,97845	---
Benzo[b]fluoranteno Ss	0,97845	---
Benzo[a]pireno Ss	-0,59245	-0,80560
Indeno[1,2,3-cd]pireno Ss	0,97845	---
Dibenz[a,h]antraceno Ss	0,97845	---
Nytokra sp	---	-0,91107
Tisbe biminiensis	0,99689	---
E. lucunter	---	-0,96852

Tabela 16 - Fatores 1 e 2 da análise fatorial para cada ponto

Locais	Fator Scores (PCA)Rotation: Varimax normalized Extração:Componentes Principais	
	Fator 1	Fator 2
Aiuia	1,12982	0,238413
Japaratinga	-0,35844	-1,09766
Barreira do boqueirão	-0,77138	0,859246

Figura 7 - Gráfico dos Fatores 1 e 2 para o ponto Aiuia

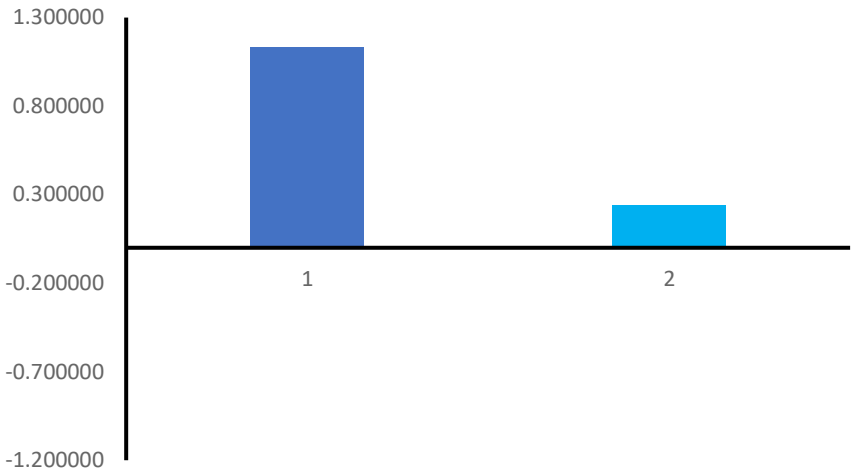


Figura 8 - Gráfico dos Fatores 1 e 2 para o ponto Japaratinga

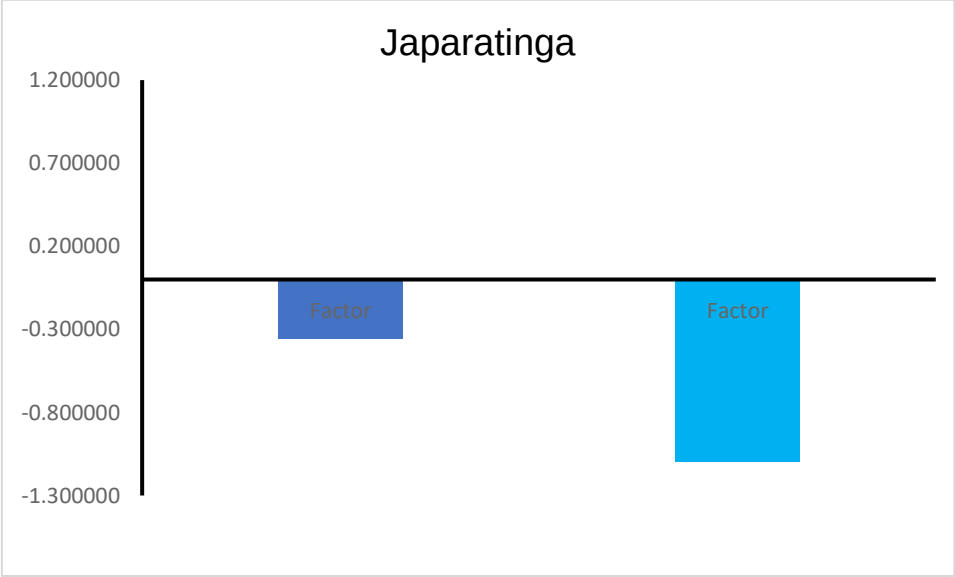
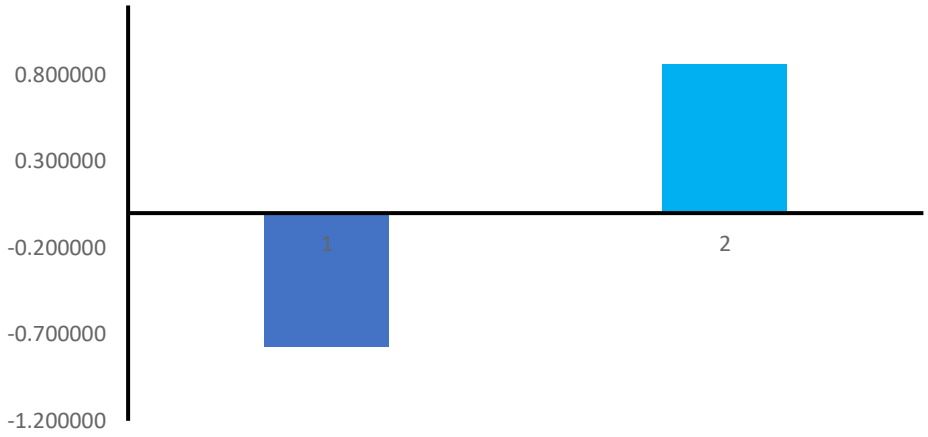


Figura 9 - Gráfico dos Fatores 1 e 2 para o ponto Barreira dos Boqueirões



4 DISCUSSÃO

As análises químicas realizadas em amostras de 2019 de água não apontaram a presença de HPAs (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) diferente das análises de sedimento que apontaram a presença de dois HPAs isômeros Criseno ($C_{18}H_{12}$) e Benz[*a*]antraceno ($C_{18}H_{12}$), isso pode ser explicado pela volatilidade de frações leves e a alta tendência de frações pesadas de petróleo hidrofóbicas aderirem a material particulado disperso na coluna d´agua e sedimentarem (FERNÁNDEZ *et al.,*, 2006).

Os valores de referência utilizados como guias internacionais e nacionais de qualidade dos sedimentos SGQ (*Sediment Quality Guidelines*) mostrados na Tabela 7, demonstram que as concentrações desses contaminantes estão acima dos limites apenas dos valores TEL (*Threshold Effects Level*) segundo a classificação de Menchaca *et al*., (2014). Segundo os outros critérios da tabela como a norma CONAMA 454\2012 ou CCME (Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente) esses valores de contaminação não representam indicadores ruins de qualidade do sedimento. Ainda, é importante observar que estes dois compostos compõem petróleo cru, mas também são comumente achados em produtos da combustão de motores a diesel (S. BISWAS, B. GHOSH, 2014). Estes muito usados em embarcações na região, mas não é possível assumir que exclusivamente a fonte poluidora tenha sido efluente costeiro e não o vazamento pelo navio petroleiro em 2019 na costa brasileira, pelo contrário, muitas frações de HPAs tem *fingerprint* (assinatura química) de petróleo venezuelano, o qual era transportado pelo petroleiro.

Além disso, é importante mencionar as pressões antrópicas que a região sofre devido a ocupação urbana próxima provocando emissão de efluentes *in natura* ao ambiente marinho e a atividade turística de recreação e lazer em massa que a região de APA costa dos corais está sujeita (ANDRADE, 2020).

Considerando esses fatores somados a contaminação pelo vazamento de petróleo, temos que padrão esperado para composição de HPAs achados no sedimento em sinistros envolvendo derramamentos de grandes quantidades de óleo cru em ambiente marinho seria a presença de diversos tipos como observou Morales-Caselles (2007) em estudos para avaliação ecotoxicológica na costa da Galícia (Espanha), tendo detectado 16 frações de HPAs presentes em sedimentos amostrados na região costeira próxima ao acidente apresentando variações em suas concentrações, mas todas elas presentes.

Nesse sentido, a presença de somente dois HPAs de petróleo no sedimento se opõe tanto ao histórico de vazamentos, como às análises químicas feitas em amostras coletadas por ONGs em diversos pontos das praias impactadas em 2019, as quais evidenciaram a presença de uma grande variedade de hidrocarbonetos variando desde decanos ($C_{10}H_{22}$) com 10 átomos de carbono até frações como n-Pentatriacontano ($C_{35}H_{72}$) com 35 átomos de carbono. Estes constituem uma mistura de petróleo com típica assinatura química de reservatórios venezuelanos e foram amplamente coletados nas praias impactadas no vazamento de 2019 (LOURENÇO *et al.,* 2020b).

Essa diversidade química mais robusta é coerente com a realidade histórica geralmente observada em um vazamento de um navio petroleiro. Em estudos realizados por Morales-Caselles *et al.,* (2007) com sedimentos impactados por vazamentos de petróleo do Navio Prestige, o qual ocorreu em novembro de 2002 na costa da Galícia (Espanha), quando foram detectados altos níveis de concentração de HPA's acompanhadas por grandes concentrações de metais pesados.

Os testes de toxicidade com anfípodes do referido trabalho são importantes por terem sensibilidade a contaminantes HPAs e demonstraram alta toxicidade tanto na região costeira impactada pelo derramamento quanto em regiões de impacto antrópico como baia de Cádiz (Espanha) e baia de Algeciras (Espanha) e diferem do presente trabalho não só pelos organismos testados, mas pela utilização de regiões de baia densamente povoadas e historicamente alvo de impactos antrópicos.

Apesar desta diferença metodológica os resultados dos trabalhos realizados na costa da Galícia indicaram que mesmo em região de alta energia como uma costa sujeita a zonas de corrente que poderiam drenar os contaminantes Del Valls *et al.,* (2007) observaram em seus estudos um amplo espectro de HPAs de petróleo potencialmente tóxicos.

Os testes de toxicidade das amostras de sedimento do derramamento ocorrido no nordeste brasileiro utilizando copépodes *Nitokra sp* não mostraram índices de toxicidade significativos ($p>0,05$) com sedimento de Aiuia, Japaratinga e Barreira dos Boqueirões. Por outro lado, os ensaios ecotoxicológicos embriolarvais com *Echinometra lucunter* demonstraram toxicidade ($p<0,01$) sobre o desenvolvimento normal de larvas.

A maior sobrevivência de copépodes pode ser explicada por uma série de características morfológicas e fisiológicas deste microcrustáceo. Comeau *et al.,* (2010) demonstraram estes organismos são pouco vulneráveis a ataques químicos externos

e adsorção na sua superfície por possuírem um exoesqueleto quitinoso relativamente impermeável. Portanto, estes organismos estão protegidos do contato exterior com frações tóxicas de HPAs contidas no ensaio, as quais tem atividade carcinogênica importante e influenciam na dinâmica metabólica da célula exercendo atividade genotóxica ao induzir a produção de pontes nucleares, células cometa, poliploidias e neoplasias (DA SILVA, 2016).

Além disso, a prole desta espécie é protegida por uma bolsa membranosa na forma de envelope que envolve os ovos das fêmeas e entre os ovos existe uma substância adesiva de composição desconhecida que mantém os ovos unidos, ou seja, ao contrário dos óvulos de *Echinometra lucunter* expostos, existem duas camadas de proteção ao redor do embrião para serem transpostas antes do contaminante penetrar e diretamente interagir com as células do embrião de copépodes (KOSOBOKOVA *et al.,* 2007).

Estes aspectos se referem ao contato do embrião com o agente químico com potencial tóxico, mas as fêmeas ovadas adultas de *Nitokra sp* colocadas no início do experimento podem ingerir o contaminante que ao percorrer seu tubo digestivo sofrerá processos digestivos. Neste ponto é importante ressaltar a natureza lipofílica de HPAs introduzidos no trato digestivo. Ocorre que vários trabalhos já detectaram a presença de enzimas em copépodes harpacticóides que permitem estes organismos converter diversos tipos de alimento orgânico em lipídeos e os armazenar em seus corpos (NANTON e CASTELL 1998; DRILLET *et al*.,.2011; CAMUS e ZENG 2012), dessa forma, as fêmeas adultas têm potencial de imobilizar o contaminante lipofílico em suas reservas corporais muito tempo depois da formação dos ovos.

É importante também observar que foram testadas diferentes matrizes quando comparamos os resultados dos testes com *Nitokra sp* e *E. lucunter*. Todavia, os fenômenos apresentados anteriormente podem explicar os motivos pelos quais observa-se maior efeito tóxico em um bioensaio.

A integridade do DNA é fundamental para a intensa multiplicação celular nas fases do desenvolvimento embrionário. Este desenvolvimento inevitavelmente é impactado pela presença de HPAs hidrofóbicos que formam micelas e são adsorvidos pela vulnerável membrana lipoproteica do óvulo fecundado de *Echinometra lucunter* e em seguida absorvidos e incorporados ao meio intracelular. A incorporação de compostos policíclicos aromáticos exerce efeito tóxico sobre a maquinaria celular sendo eles parcialmente oxidados por sistemas enzimáticos produzindo compostos com alta afinidade de ligação pelas moléculas de DNA e desestruturam a multiplicação

celular (MANAHAN, S. 2002). Esse processo leva ao desenvolvimento anormal das larvas que apresentam anormalidades estruturais e ovos com evolução retardada prejudicando o desenvolvimento embriolarval como verificado nos resultados (Figura 4).

Estes resultados mostram a importância de se avaliar o impacto em diferentes organismos a fim de se evitar conclusões baseadas em simplificações grosseiras, pois os processos ecológicos variam em diferentes níveis tróficos e seu conhecimento não pode ser obtido avaliando-se espécies isoladamente (LANA, 2003).

Outras linhas de evidência como as análises químicas realizadas nesse estudo, fornecem um complemento importante para entender quantitativamente e qualitativamente o nível de contaminação a que o ambiente está submetido. Dessa forma, as diferentes matrizes de análise potencializam a capacidade de diagnóstico ambiental contribuindo para aumentar a precisão na avaliação de riscos ecológicos e podem balizar importantes ações de monitoramento e remediação ambiental (ABESSA, 2002).

Todavia, a interpretação de contaminantes contendo compostos HPAs precisa ser feita com cautela como observou McGrath *et al*. (2019) que revisou diferentes índices de contaminação utilizados em diversos órgãos ambientais em variados países. A toxicidade e a biodisponibilidade de HPAs segundo o autor não é igual para todos os compostos da mistura derramada de petróleo e nem para todos os ambientes ao redor do mundo devido a diversos fatores como intempéries físico-químicas que modificam a atuação e disponibilidade do contaminante de forma específica para cada ambiente.

A integração dos dados obtidos nos ensaios com amostras do vazamento de 2019, demonstrou que as consequências mais relevantes nas áreas estudadas foram a contaminação dos corais pelos aromáticos Naftaleno; Acenafteno; Fenantreno; Fluoranteno; Pirene; Benz[a]antraceno; Benzo[b]fluoranteno; Indeno[1,2,3-cd]pireno; Acenafteno; Benz[a]antraceno; Benz[a]fluoranteno; Benzo[b]fluoranteno (Fator 1 da Tabela 15), bem como o Criseno para sedimento. Esse quadro de contaminação foi principalmente evidenciado no Ponto Aiuia, o qual é uma área de preservação total dentro da APA Costa dos Corais sem acesso a turistas e pescadores. Quanto ao fator 2, evidencia-se a associação dos efeitos tóxicos com a contaminação de sedimento e corais (score positivo), de forma mais evidente para o ponto Barreira do Boqueirões.

Nossos resultados corroboram com o estudo de Miranda et al. (2022), que observaram manchas de óleo em dois recifes localizados na praia do Boqueirão, em

Japaratinga. As manchas de óleo variaram entre 0,5 e 150 cm e foram encontradas em cristas, fendas e poças de maré. Entretanto, os autores não encontraram manchas de óleo em áreas recifais submersas com ou sem uso turístico.

5 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo evidenciam que o derramamento de petróleo ocorrido na costa do nordeste em 2019 contaminou com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos o sedimento e diferentes espécies de corais na região do município de Japaratinga pertencente à Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais, em Alagoas. Além da contaminação, efeitos tóxicos foram observados em organismos expostos a amostras de sedimento da região.

Portanto, por se tratar de contaminantes com alto peso molecular e potencial tóxico à vida marinha local é importante que ações de remediação, recuperação e monitoramento ambiental sejam realizadas nessa zona costeira a fim de manter sua qualidade ambiental e seus potenciais serviços ecossistêmicos.

REFERÊNCIAS

ABBOT, J.; GUIJT, I. Novas visões sobre mudança ambiental: abordagens participativas de monitoramento. IIED, 198, 1999.

ABESSA, D. M. S. Avaliação da qualidade dos sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil. Ph.D. Teses. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 2002.

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**

ANDRADE, J. A. P. Pesca artesanal, turismo e impactos socioambientais: a percepção ambiental dos pescadores na APA Costa dos Corais (Alagoas/Brasil). 2020. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Instituto de Ciências do Mar - LABOMAR, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

ANGULO-CUERO J, GRASSI MT, DOLATTO RG, PALACIO-CORTÉS AM, ROSERO-MOREANO M, ARISTIZÁBAL BH. Impact of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangroves from the Colombian pacific coast: Evaluation in sediments and bivalves. **Mar Pollut Bull**. 2021;172.

APA Costa dos Corais. Rio de Janeiro: *Technical Books* Editora, 2014. 193 p.

BRANDL, Z. Freshwater copepods and rotifers: predators and their prey. In: Rotifera X. Springer, Dordrecht, 2005. p. 475-489.

CAMUS, T.; ZENG. C.: Reproductive performance, survival, and development of nauplii and copepodites, sex ratio and adult life expectancy of the harpacticoid copepod, *Euterpina acutifrons* fed different microalgal diets. **Aquaculture Research** 43: 1159–1169.; 2012.

CAPUZZO, J. M. Biological effects of petroleum hydrocarbons: Assessments from experimental results. In: Long-term Environmental Effects of Offshore Oil and Gas Development. D. F. Boesch and N. N. Rabalais [eds.]. **Elsevier Applied Science**, London, pp. 343-410.; 1987.

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.

COMEAU, S., R. JEFFREE, J.L. TEYSSIÉ, AND J.P. GATTUSO. *Response of the Arctic pteropod Limacina helicina to projected future environmental conditions*. **PLoS One** 5 (6): e11362; 2010.

COSTA, C.R.; O LIVI, P.; BOTTA, C.M.R.; SPINDOLA, E.L.G**.** A Toxicidade em Ambientes Aquáticos: discussão e métodos de avaliação**. Química Nova**, v.31 (7) 1820-1830. 2008

DA SILVA, J. DNA *damage induced by occupational and environmental exposure to miscellaneous chemicals.* ***Mutation Research/Reviews in Mutation Research*****,** v. 770, p. 170-182, 2016.

DALY, M.; BRUGLER, M. R.; CARTWRIGHT, P.; COLLINS, A. G.; DAWSON, M.
DE OLIVEIRA ESTEVO, M. *Immediate social and economic impacts of a major oil spill on Brazilian coastal fishing communities.* ***Marine Pollution Bulletin***, v. 164, p. 111984, 2021.

DRILLET, G., S. FROUËL, M.H. SICHLAU, P.M. JEPSEN, J.K. HØJGAARD, A.K. JOARDER, AND B.W. HANSEN. *Status and recommendations on marine copepod cultivation for use as live feed*. **Aquaculture** 315 (3–4): 155–166. 2011.

Estado de São Paulo, Brasil : síntese do conhecimento ao final do século XX, 3: invertebrados marinhos. São Paulo: FAPESP, 1999. v.3, cap.38, p.259-27

FERNÁNDEZ, N., CESAR, A., GONZÁLEZ, M., & DELVALLS, T. A. *Nivel de contaminación de sedimentos afectados por el vertido del Prestige y sus efectos sobre el desarrollo embrionario del erizo de mar.* ***Ciencias Marinas****,* v. 32, n. 2B, p. 421-427, 2006.

G. DAL PONT, L.R. SOUZA-BASTOS, M. GIACOMIN, R.G. DOLATTO, L.M. BAIKA, M.T. GRASSI, A. OSTRENSKY, C.M. WOOD, *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 (2019) 108590. doi:10.1016/j.cbpc.2019.108590.

GÓES, M. H. B. Ambientes Costeiros do Estado de Alagoas . Rio de Janeiro:

GOLDSTEIN, G.; BERTOLETTI, E. ; ZAGATTO, P.A.; ARAUJO, R.P.A. RAMOS, M.L.L.C**. Procedimentos para Utilização de Testes de Toxicidade no Controle de Efluentes Líquidos**, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB): São Paulo, 1990. https://cetesb.sp.gov.br/ Acessado: 30 abril 2022

HADEL, V. F.; MONTEIRO, A. M. G.; DITAD I, A. S. F.; TIAGO, C. G.; TOMMASI, L. R. Filo Echinodermata. In: JOLY, C. A. & BICUDO, C. E. M. (orgs.). Biodiversidade do HAIRSTON, N. G. JR.&A. J. BOHONAK, 1998. *Copepod reproductive strategies: life-history theory, phylogenetic pattern and invasion of inland waters.* ***Journal of Marine Systems*** 15: 23–34.

HAN M, ZHANG R, YU K, LI A, WANG Y, HUANG X. *Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in corals of the South China Sea: Occurrence, distribution, bioaccumulation, and considerable role of coral mucus.* ***J Hazard Mater***. 2020;384.

HENDLER, G. Seasonality of echinoid mortality at Galeta, Panama. In: *MEETING OF THE ASSOCIATION OF ISLAND MARINE LABORATORIES OF THE CARIBBEAN, 12.,1976, Curacao. Proceedings... Curacao:* ***Association of Island Marine Laboratories of the Caribbean***, 1977a. p.34.

HENDLER, G.; MILLER, J. E.; PAW SON, D. L.; KIER, P. M. *Sea Stars, Sea Urchins, and Allies : Echinoderms of Florida and the Caribbean. Hong Kong:* ***Smithsonian Institution Press,*** 1995. 390p.

KOSOBOKOVA, K. N.; HIRCHE, H.-J.; HOPCROFT, R. R. *Reproductive biology of deep-water calanoid copepods from the Arctic Ocean.* ***Marine biology****,* v. 151, n. 3, p. 919-934, 2007.

LANA, P. da C. O Valor da biodiversidade e o impasse taxonômico: diversidade marinha como estudo de caso. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 8, p. 97-104, 2003.

LEWIS, J. B.; STOREY, G. S. *Differences in morphology and life hist ory traits of the echinoid Echinometra lucunter from different habitats.* ***Marine Ecology Progress Series****,* [S.I.], v.15, p.207-211, 1984.

LOURENÇO, R. A., COMBI, T., DA ROSA ALEXANDRE, M., SASAKI, S. T., ZANARDI-LAMARDO, E., & YOGUI, G. T. (2020). *Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): trying to find answers and filling data gaps****. Marine Pollution Bulletin,*** v. 156, p. 111219, 2020.

M.A. BRAGA, K.M. BRAUKO, M. VICENTINI, L.D. SALGADO, H.C. SILVA DE ASSIS, R.G. DOLATTO, M.T. GRASSI, L. SANDRINI-NETO, P.C. LANA, *Cytotoxicity and enzymatic biomarkers as early indicators of benthic responses to the soluble-fraction of diesel oil,* ***Ecotoxicol. Environ. Saf.*** 164 (2018) 21–31. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.07.084.

MACLEOD, W. D.; BROWN, D. W.; FRIEDMAN, A. J.; BURROWS, D. G.; MAYNES, O.; PEARCE, R. W.; PEARCE, R. W.; WIGREN, C. A.; BOGAR, R. G. . ***Standard Analytical Procedures of the NOAA National Analytical Facility, 1985-1986.*** *Extractable Toxic Organic Components****. 2 ed 1986, U. S. Department of Commerce, NOAA/NMFS. NOAA Tech***. Memo. NMFS F/NWC-92, 121.

MAGALHÃES D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. **A Ecotoxicologia como Ferramenta no Biomonitoramento de Ecossistemas Aquáticos**, FIOCRUZ, Rio de Janeiro**. Oecol. Bras.,** 12 (3): 355-381. 2008.

McGRATH, J. A., JOSHUA, N., BESS, A. S., & PARKERTON, T. F. (2019). *Review of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) sediment quality guidelines for the protection of benthic life.* ***Integrated environmental assessment and management****,* v. 15, n. 4, p. 505-518, 2019.

MIRANDA RICARDO J., PINTO TACIANA K.O., LOPES ROSY V.R., SANTOS JANISSON W., SAMPAIO CLÁUDIO L.S., SANTOS ROBSON G. et al. *Oil Spill Disaster in Southwest Atlantic Coast: An Evaluation of Short-Term Effects on Coral Reef Benthic Assemblages*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 94 (Suppl. 2), e20210401. https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210401.

MORALES-CASELLES, C., KALMAN, J., RIBA, I., & DELVALLS, T. A. (2007). *Comparing sediment quality in Spanish littoral areas affected by acute (Prestige, 2002) and chronic (Bay of Algeciras) oil spills.* ***Environmental Pollution***, v. 146, n. 1, p. 233-240, 2007.

MORALES-CASELLES, C., JIMÉNEZ-TENORIO, N., RIBA, I., SARASQUETE, C., & DELVALLS, T. Á. (2007). *Kinetic of biomarker responses in juveniles of the fish Sparus aurata exposed to contaminated sediments.* ***Environmental monitoring and assessment***, v. 131, n. 1, p. 211-220, 2007.

DALY, M., BRUGLER, M. R., CARTWRIGHT, P., COLLINS, A. G., DAWSON, M. N., FAUTIN, D. G., ... & STAKE, J. L. *The phylum Cnidaria: A review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus*. 2007. **Zootaxa** 1668, 127-182. (2007).

NANTON, D.A., AND J.D. CASTELL. *The effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, Tisbe sp., for use as a live food for marine fish larvae.* ***Aquaculture*** 163: 251–261. 1998

PEREIRA, P. H. C.; FEITOSA, J. L. L.; CHAVES, L. C. Guia da Biodiversidade marinha RAND, GARY M. ***Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects Environmental Fate and Risk Assessment*****,** 2 ed. 1995 Ed. Taylor & Francis, 1148p, Pág.37.

RESOLUÇÃO CONAMA N° 454, DE 1º DE NOVEMBRO DE 2012. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2012/res_conama_454_2012_materialserdragadoemaguasjurisdicionaisbrasileiras.pdf acesso em: 25/04/2022

RUPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva. 7.ed. São Paulo: Roca, 2005.

RUPPERT, E.; BARNES, R.D. Zoologia dos Invertebrados. 6ª ed., Roca Ed., São Paulo. 1029 p. 1996

S. BISWAS, B. GHOSH, -"*Chrysene", Encyclopedia of Toxicology* 3. ed 2014, **Academic Press, Pages** 959-962, ISBN 9780123864550, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00286-4.Series, [S.l.], v.15, p.207-211, 1984.

TON, S. S., CHANG, S. H., HSU, L. Y., WANG, M. H., & WANG, K. S. (2012). *Evaluation of acute toxicity and teratogenic effects of disinfectants by Daphnia magna embryo assay.* ***Environmental Pollution.,*** 168 54-61. 2012.

SOARES, E. C., BISPO, M. D., VASCONCELOS, V. C., SOLETTI, J. I., CARVALHO, S. H. V., DE OLIVEIRA, M. J., ... & SANTOS, J. C. C. (2021). *Oil impact on the environment and aquatic organisms on the coasts of the states of Alagoas and Sergipe, Brazil-A preliminary evaluation.* ***Marine Pollution Bulletin****,* v. 171, p. 112723, 2021.

SOARES, M. D. O., TEIXEIRA, C. E. P., BEZERRA, L. E. A., ROSSI, S., TAVARES, T., & CAVALCANTE, R. M. (2020). *Brazil oil spill response: Time for coordination****.*** ***Science****,* v. 367, n. 6474, p. 155-155, 2020.

SOUZA, C. D.; BATISTA, V. S.; FABRE, N. N. *Characterization of the fishery in the south of environmental protection area of Costa dos Corais, Alagoas State, Brazil****.*** **B. Inst. Pesca,** p. 155-169, 2012.

TABACHNICK, B.G.&FIDELL, L.S. *Using multivariate statistics*. 3 ed. Harper Collins. 1996.

TOMMASI, L.R; Lista dos Equinóides Recentes do Brasil. Contribuições Avulsas do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo Série Oceanografia Biológica, 11: 1-50.; . 1966.

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.

WANG, Qingren et al. Potential approaches to improving biodegradation of hydrocarbons for bioremediation of crude oil pollution. Journal of environmental protection, v. 2, n. 01, p. 47, 2011.

APENDICE I - TRABALHO SUBMETIDO OU ACEITO PARA PUBLICAÇÃO

Regional Studies in Marine Science

Ecotoxicological assessment of an oil-impacted Environmental Protecte dos Corais, Alagoas, Brazil)

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Paper
Keywords:	Oil spill; HPA contamination; EPA Costa dos Corais; Conservatio
Corresponding Author:	Camilo Pereira Universidade Federal de São Paulo Santos, São Paulo Brazil
First Author:	Leonardo Sorense Borges
Order of Authors:	Leonardo Sorense Borges
	Rafael Dolatto
	Pedro Pereira
	Gislaine Vanessa de Lima
	Bianca Pazini
	Paloma Gusso
	Rodrigo Choueri
	Augusto Cesar
	Marco Grassi
	Helen Henrique
	Camilo Pereira
Abstract:	The present study aims to evaluate the environmental quality during leading to coral reefs and beach contamination that occurred in 201 the state of Alagoas, specifically in the region of EPA Costa dos Co data from WWF Brazil, this is the Conservation Unit with the highes contamination points in northeastern Brazil. Chemical analyzes of d environmental matrixes and ecotoxicological assays during the epis jointly establish a holistic view of the impacts on affected ecosystem method for determining environmental quality provides an answer t questions asked in comprehensive studies of environmental quality contaminated aquatic systems: What are the levels of contaminants effects do they have on the ecosystem? Based on the results found generate subsidies for the protection and management of the impac ecological systems. Preliminary data show that the local biota is pre gradient of toxic action exerted by Polycyclic Aromatic Hydrocarbon detected in the sediments and coral reefs. Furthermore, the intensit of specific sites were found even using different test-organisms. As compounds of high molecular weight which present potential to acc marine life, and considering the potential risk of impact on different marine biota, it is recommended that remediation, recovery, and en monitoring actions be articulated that seek to asses and to mitigate environmental impacts.
Suggested Reviewers:	Maria Laura Martin Diaz laura.martin@uca.es
	Julian Blasco julian.blasco@csic.es
	Afonso Bainy afonso.bainy@ufsc.br

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

APÊNDICE II – Parâmetros da solução padrão de referência multicomponente para análise de sedimentos.

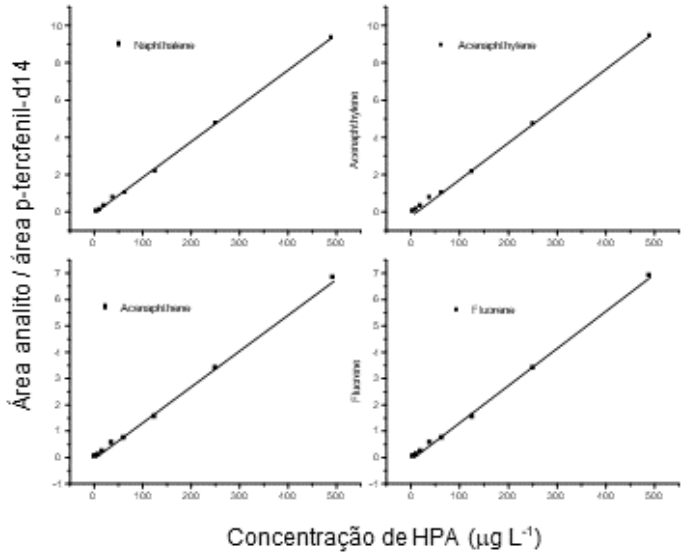
TABELA 1

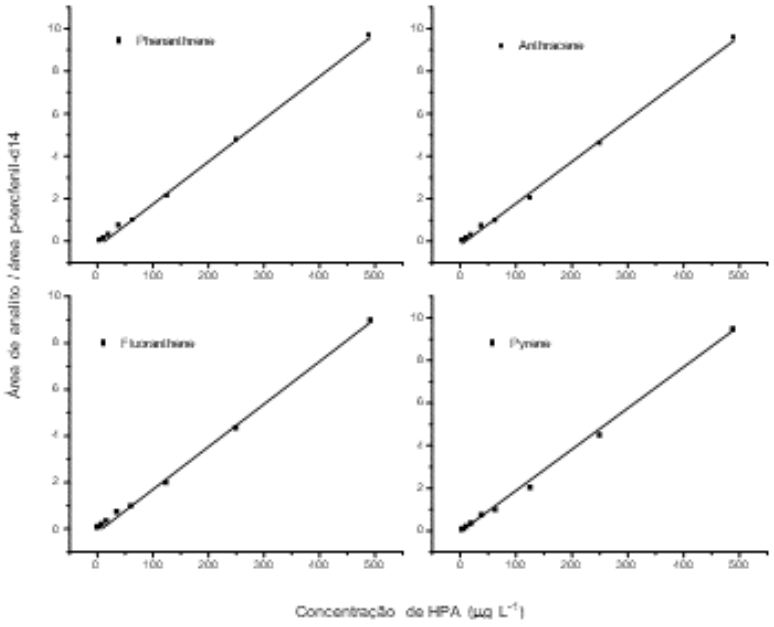
Analito	Tempo de retenção (min)	m/z quantificação	m/z confirmação
Naphthalene-D8	9,209	136	*136*, 137, 108
Naphthalene	9,252	128	*128*, 127, 129
Acenaphthylene	12,809	152	*152*, 151,150
Acenaphthene-d10	13,151	162	*162*, 164,160
Acenaphthene	13,226	153	*153*, 154, 152
Fluorene	14,455	166	*166*, 165, 164
Phenanthrene-D10	16,701	188	*188*, 187, 184
Phenanthrene	16,756	178	*178*, 176, 152
Anthracene	16,876	178	*178*, 176, 179
Fluoranthene	20,002	202	*202*, 200, 203
Pyrene	20,339	202	*202*, 200, 201
p-Terphenyl-d14	20,929	244	*244*, 243, 245
Chrysene	24,883	228	*228*, 226, 229
Chrysene-D12	24,924	240	*240*, 236, 241
Benz[a]anthracene	25,034	228	*228*, 226, 229
Benzo[b]fluoranthene	30,512	252	*252*, 250, 253
Benzo[k]fluoranthene	30,694	252	*252*, 250, 253
Benzo[a]pyrene	32,204	252	*252*, 250, 253
Perylene-D12	32,440	264	*264*, 260, 265
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	36,209	276	*276*, 277, 274
Dibenz[a,h]anthracene	36,350	278	*278*, 279, 276
Benzo[ghi]perylene	37,249	276	*276*, 277, 274

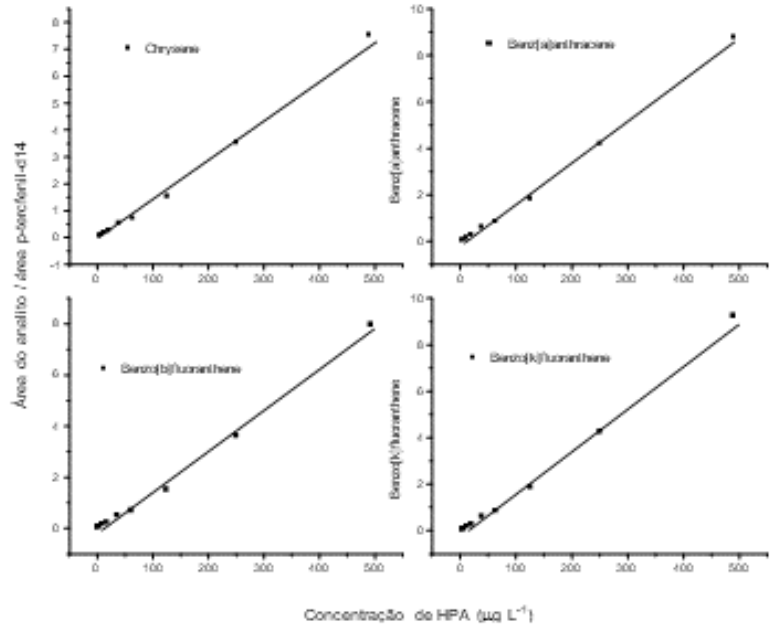
TABELA 2

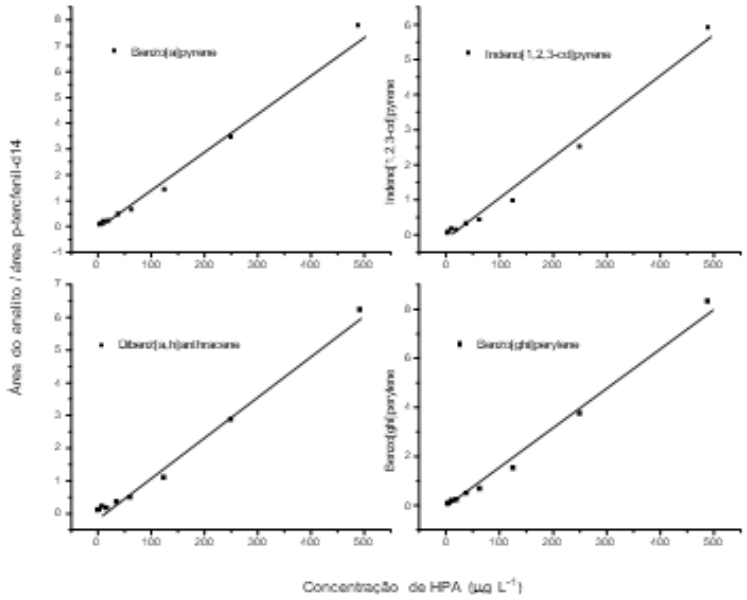
Composto	Faixa linear (µg/L)	$_r2$
Naphthalene-D8	2,5 a 490	0,9994
Naphthalene	2,5 a 490	0,9993
Acenaphthylene	2,5 a 490	0,9991
Acenaphthene-d10	2,5 a 490	0,9991
Acenaphthene	2,5 a 490	0,9989
Fluorene	2,5 a 490	0,9986
Phenanthrene-D10	2,5 a 490	0,9987
Phenanthrene	2,5 a 490	0,9986
Anthracene	2,5 a 490	0,9977
Fluoranthene	2,5 a 490	0,9982
Pyrene	2,5 a 490	0,9974
Chrysene	2,5 a 490	0,9958
Chrysene-D12	2,5 a 490	0,9961
Benz[a]anthracene	2,5 a 490	0,9974
Benzo[b]fluoranthene	2,5 a 490	0,9937
Benzo[k]fluoranthene	2,5 a 490	0,9955
Benzo[a]pyrene	2,5 a 490	0,9918
Perylene-D12	2,5 a 490	0,9936
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	2,5 a 490	0,9862
Dibenz[a,h]anthracene	2,5 a 490	0,9904
Benzo[ghi]perylene	2,5 a 490	0,9922

Curvas analíticas




Phenanthrene
Anthracene
Fluoranthene
Pyrene
Área do analito / área p-terc/fenil-d14
Concentração de HPA (µg L-1)

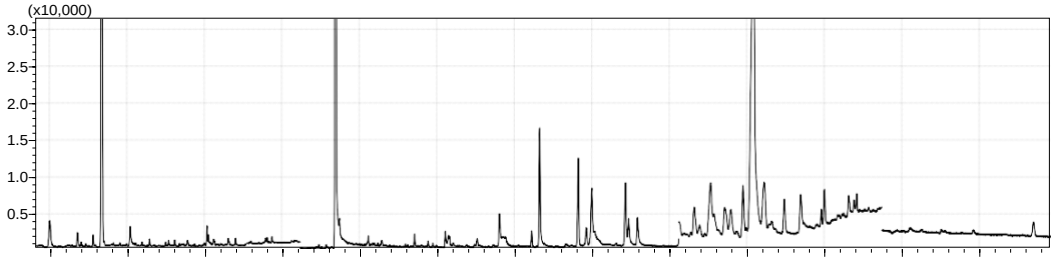

Chrysene
Benz[a]anthracene
Benz[b]fluoranthene
Benz[k]fluoranthene
Área do analito / área p-terc/fenil-d14
Concentração de HPA (µg L-1)



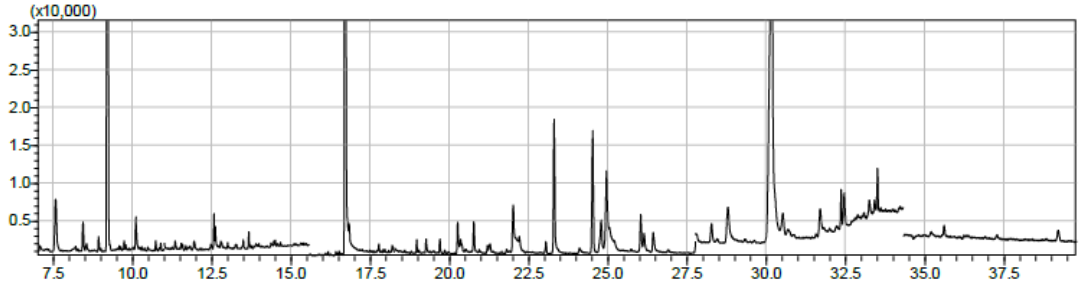
Concentração de HPA determinada (ng/g)	Amostras		
	Sem identificação	Amostra 02 Recife não afetado 31/10/2019	Jacaratinga afetado areia 03
Recuperação (%) surrogates			
Naphthalene-D8	14.8	15.1	14.9
Acenaphthene-D10	13.1	14.7	14.3
Phenanthrene-D10	30.0	25.4	25.7
Chrysene-D12	46.9	35.4	33.8
Perylene-D12	68.4	58.1	64.7

CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS

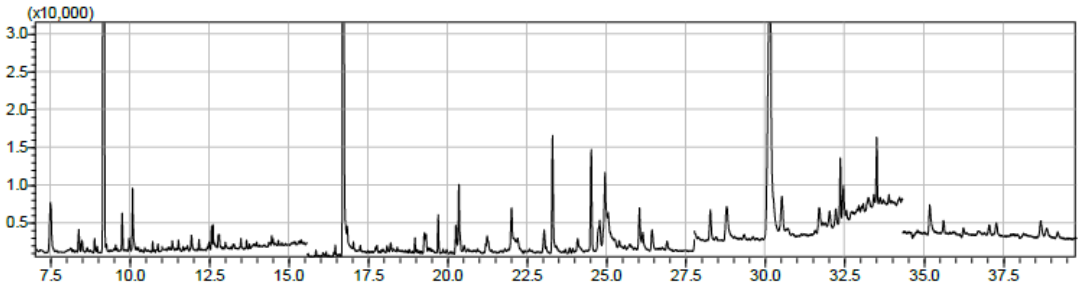
Sedimento 01



Sedimento 02



Sedimento 03



APÊNDICE III – Parâmetros da solução padrão de referência multicomponente para análise da água.

TABELA 1

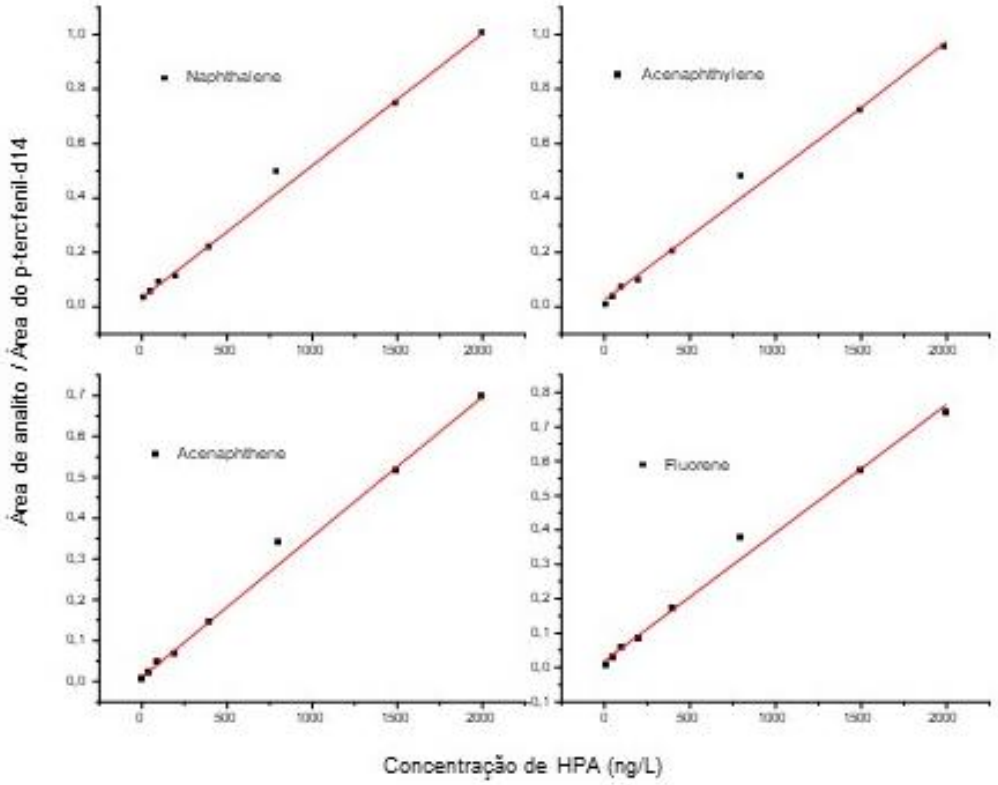
Analito	Tempo de retenção (min)	m/z quantificação	m/z confirmação
Naphthalene-D8	9,209	136	136, 137, 108
Naphthalene	9,252	128	128, 127, 129
Acenaphthylene	12,809	152	152, 151,150
Acenaphthene-d10	13,151	162	162, 164,160
Acenaphthene	13,226	153	153, 154, 152
Fluorene	14,455	166	166, 165, 164
Phenanthrene-D10	16,701	188	188, 187, 184
Phenanthrene	16,756	178	178, 176, 152
Anthracene	16,876	178	178, 176, 179
Fluoranthene	20,002	202	202, 200, 203
Pyrene	20,339	202	202, 200, 201
p-Terphenyl-d14	20,929	244	244, 243, 245
Chrysene	24,883	228	228, 226, 229
Chrysene-D12	24,924	240	240, 236, 241

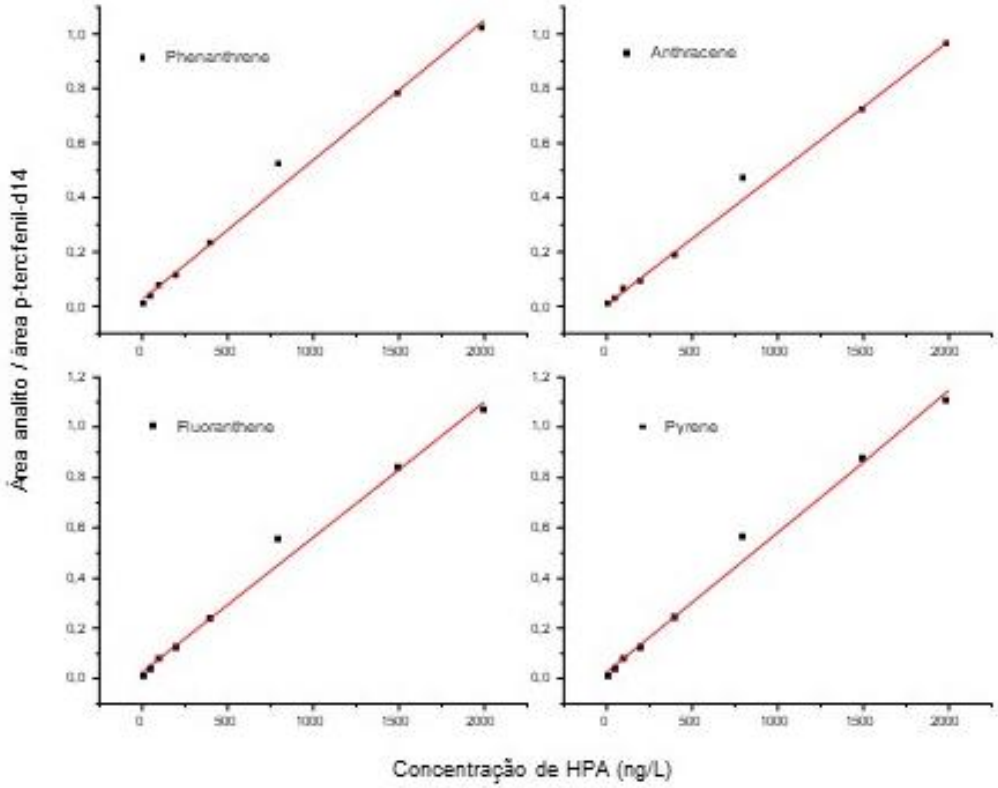
Benz[a]anthracene	25,034	228	228, 226, 229
Benzo[b]fluoranthene	30,512	252	252, 250, 253
Benzo[k]fluoranthene	30,694	252	252, 250, 253
Benzo[a]pyrene	32,204	252	252, 250, 253
Perylene-D12	32,44	264	264, 260, 265
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	36,209	276	276, 277, 274
Dibenz[a,h]anthracene	36,35	278	278, 279, 276
Benzo[ghi]perylene	37,249	276	276, 277, 274

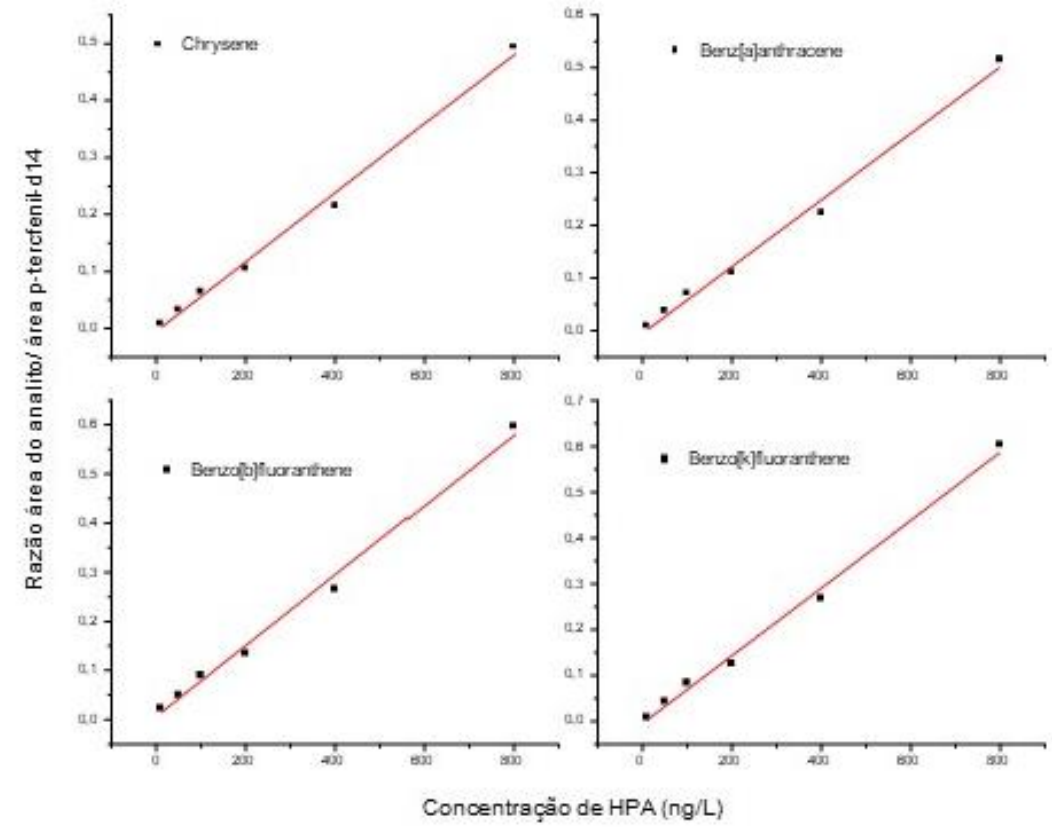
TABELA 2

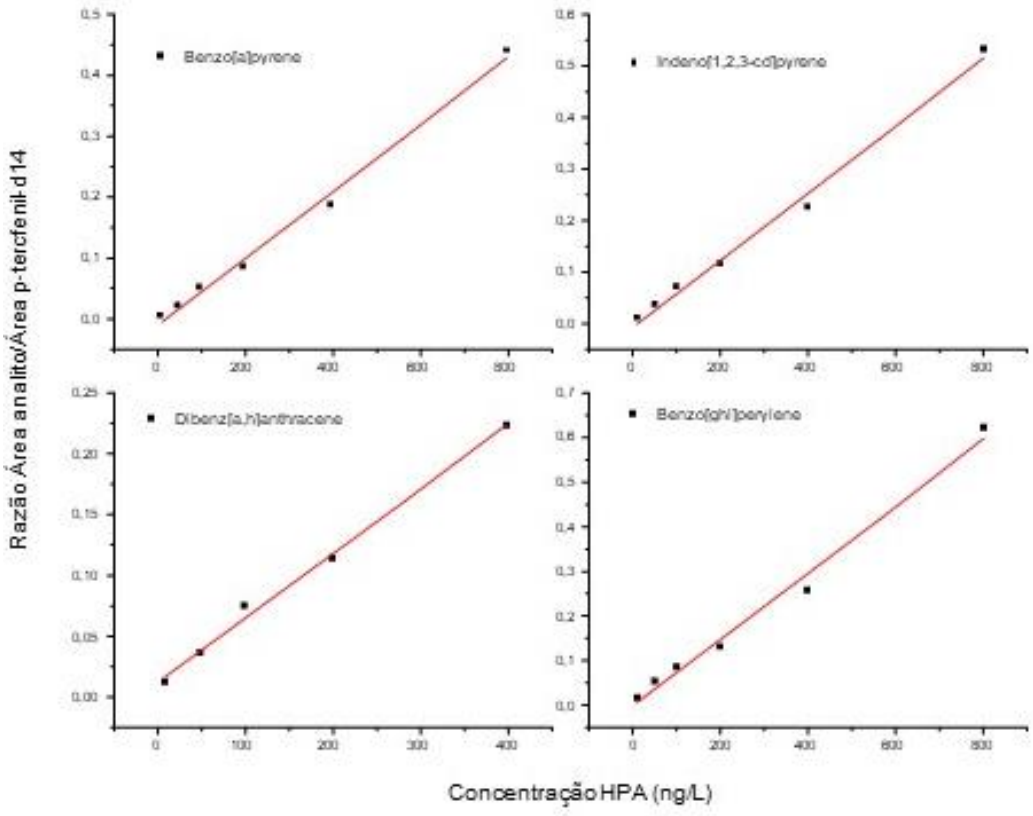
Composto	Faixa linear (ng/L)	r^2
Naphthalene-D8	10 a 2000	0,9937
Naphthalene	10 a 2000	0,9935
Acenaphthylene	10 a 2000	0,9918
Acenaphthene-d10	10 a 2000	0,9912
Acenaphthene	10 a 2000	0,9922
Fluorene	10 a 2000	0,9920
Phenanthrene-D10	10 a 2000	0,9899
Phenanthrene	10 a 2000	0,9911
Anthracene	10 a 2000	0,9930
Fluoranthene	10 a 2000	0,9904
Pyrene	10 a 2000	0,9917
Chrysene	10 a 800	0,9940
Chrysene-D12	10 a 800	0,9932
Benz[a]anthracene	10 a 800	0,9929
Benzo[b]fluoranthene	10 a 800	0,9926
Benzo[k]fluoranthene	10 a 800	0,9936
Benzo[a]pyrene	10 a 800	0,9929
Perylene-D12	10 a 400	0,9895
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	10 a 800	0,9918
Dibenz[a,h]anthracene	10 a 400	0,9950
Benzo[ghi]perylene	10 a 800	0,9886

Curvas analíticas



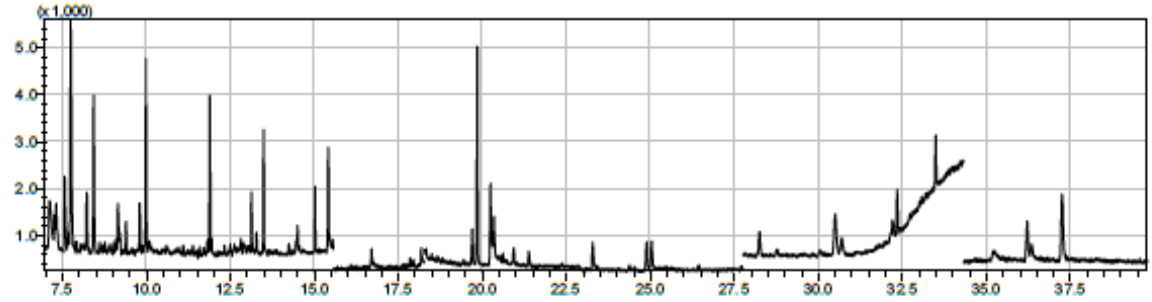



Chrysene
Benz[a]anthracene
Benzo[b]fluoranthene
Benzo[k]fluoranthene
Razão área do analito/ área p-tercfenil-d14
Concentração de HPA (ng/L)

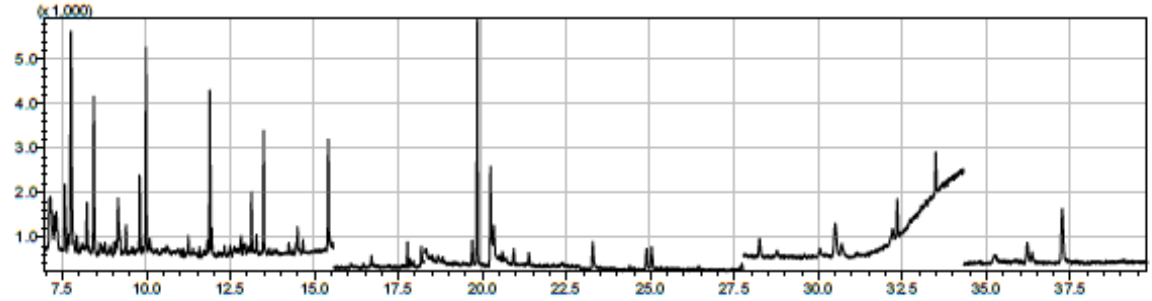

Benzo[a]pyrene
Indeno[1,2,3-cd]pyrene
Dibenz[a,h]anthracene
Benzo[ghi]perylene
Razão Área analito/Área p-tercfenil-d14
Concentração HPA (ng/L)

CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS

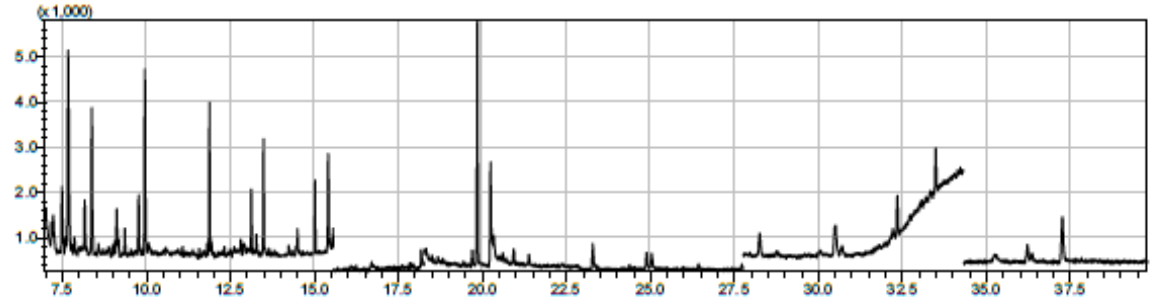
Amostra 1 – Japaratinga, recife de coral 1



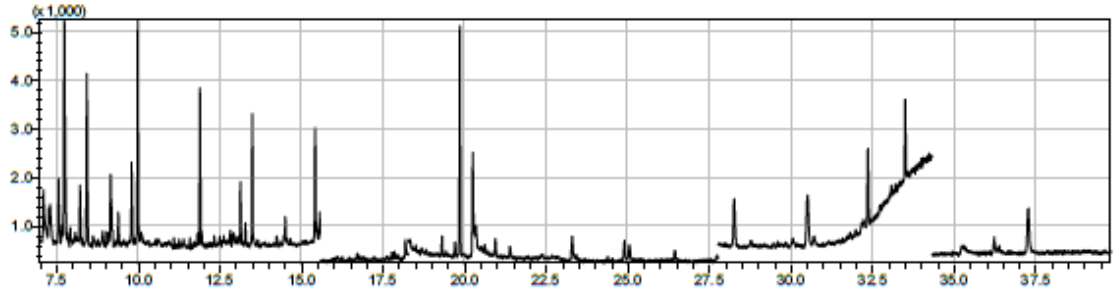
Amostra 2 - Japaratinga, recife de coral 2



Amostra 3 - Recife não afetado 02 local Alívia



Amostra 4 - Recife afetado, Água 02 afetado



APÊNDICE IV – Parâmetros da solução padrão de referência multicomponente para análise de HPAs em Corais

TABELA 1

Composto	**Tempo de retenção (min)**	**m/z* quantificação**	**m/z confirmação**
Naphthalene-D8 (surrogate)	9,209	136	*136*, 137, 108
Naphthalene	9,252	128	*128*, 127, 129
Acenaphthylene	12,809	152	*152*, 151,150
Acenaphthene-d10 (surrogate)	13,151	162	*162*, 164,160
Acenaphthene	13,226	153	*153*, 154, 152
Fluorene	14,455	166	*166*, 165, 164
Phenanthrene-D10 (surrogate)	16,701	188	*188*, 187, 184
Phenanthrene	16,756	178	*178*, 176, 152
Anthracene	16,876	178	*178*, 176, 179
Fluoranthene	20,002	202	*202*, 200, 203
Pyrene	20,339	202	*202*, 200, 201
p-Terphenyl-d14 (padrão interno, IS)	20,929	244	*244*, 243, 245
Chrysene	24,883	228	*228*, 226, 229
Chrysene-D12 (surrogate)	24,924	240	*240*, 236, 241
Benz[a]anthracene	25,034	228	*228*, 226, 229
Benzo[b]fluoranthene	30,512	252	*252*, 250, 253
Benzo[k]fluoranthene	30,694	252	*252*, 250, 253
Benzo[a]pyrene	32,204	252	*252*, 250, 253
Perylene-D12 (surrogate)	32,440	264	*264*, 260, 265
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	36,209	276	*276*, 277, 274
Dibenz[a,h]anthracene	36,350	278	*278*, 279, 276
Benzo[ghi]perylene	37,249	276	*276*, 277, 274

Tabela 2

Tabela 2- Padrão interno (IS): p-terfenilD14 em concentração de 100 µg/L.

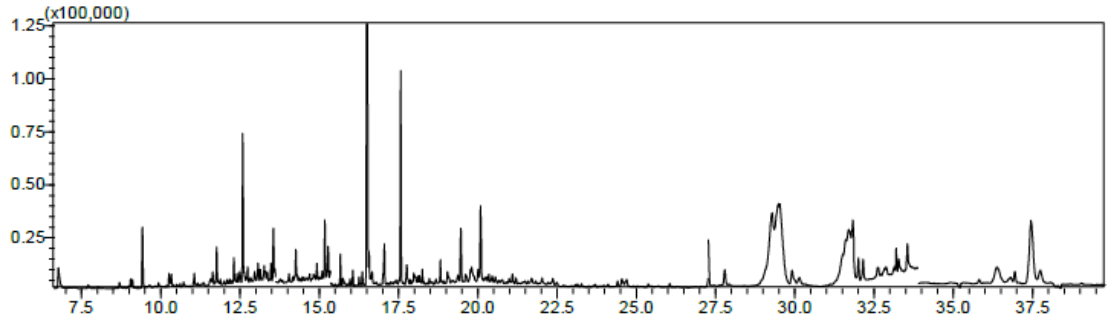
Composto	**Faixa linear (µg/L)**	**$_r$2**
Naphthalene-D8 (surrogate)	10 a 294	0,9965
Naphthalene	10 a 294	0,9972
Acenaphthylene	10 a 294	0,9970
Acenaphthene-d10 (surrogate)	10 a 294	0,9954
Acenaphthene	10 a 294	0,9955
Fluorene	10 a 294	0,9965
Phenanthrene-D10 (surrogate)	10 a 294	0,9975
Phenanthrene	10 a 294	0,9976
Anthracene	10 a 294	0,9975
Fluoranthene	10 a 294	0,9970
Pyrene	10 a 294	0,9976
Chrysene	10 a 294	0,9996
Chrysene-D12 (surrogate)	10 a 294	0,9988
Benz[a]anthracene	25 a 294	0,9964
Benzo[b]fluoranthene	10 a 294	0,9994
Benzo[k]fluoranthene	10 a 294	0,9959
Benzo[a]pyrene	10 a 294	0,9988
Perylene-D12 (surrogate)	10 a 294	0,9990
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	25 a 294	0,9988
Dibenz[a,h]anthracene	25 a 294	0,9964
Benzo[ghi]perylene	25 a 294	0,9988

Recuperações médias de padrões surrogates

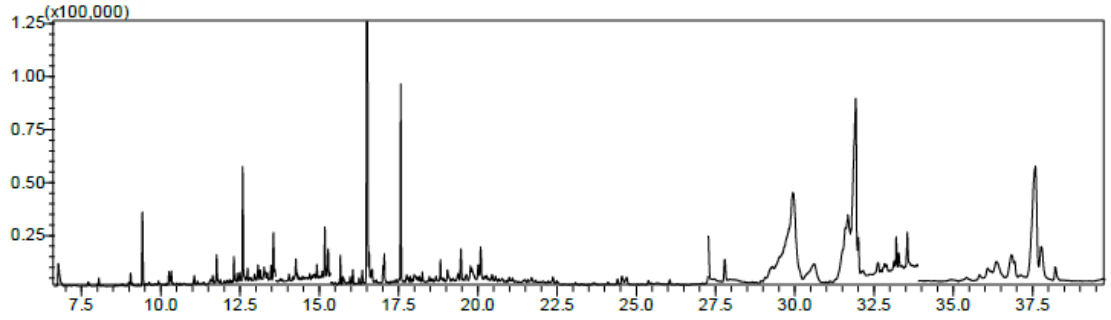
REC (%) surrogates	**Média %**	**SD**
Naphthalene-D8	7	10
Acenaphthene-d10	24	12
Phenanthrene-D10	48	10
Chrysene-D12	71	14
Perylene-D12	60	20

CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS

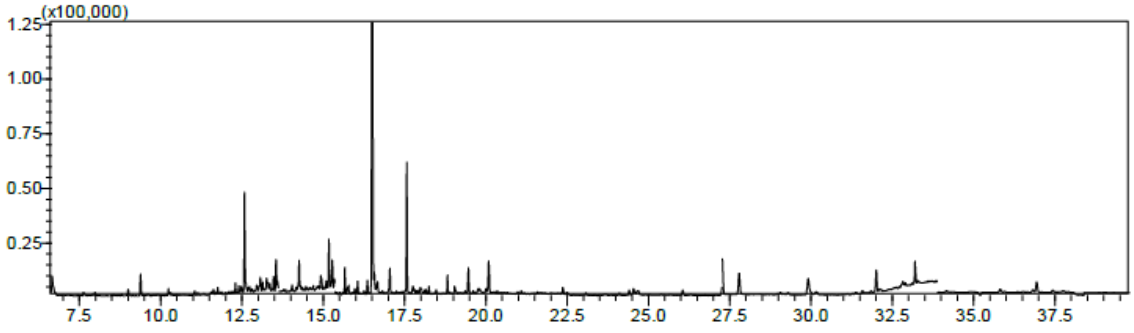
Barra do Boqueirão s stelatta 1



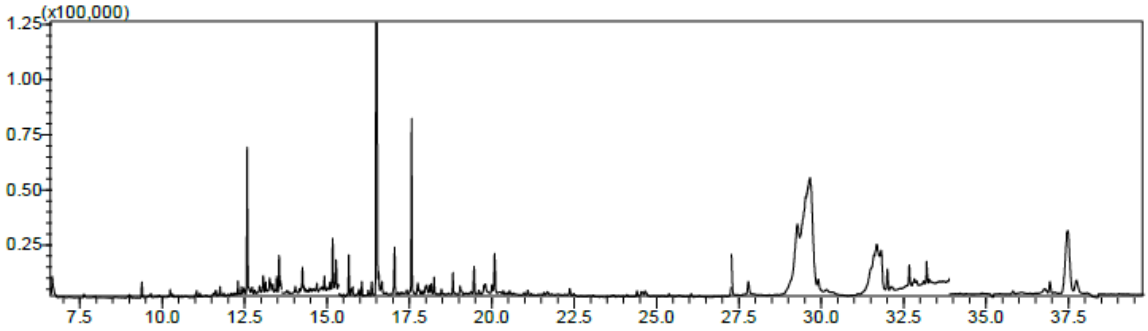
Barra do Boqueirão s stelatta 2



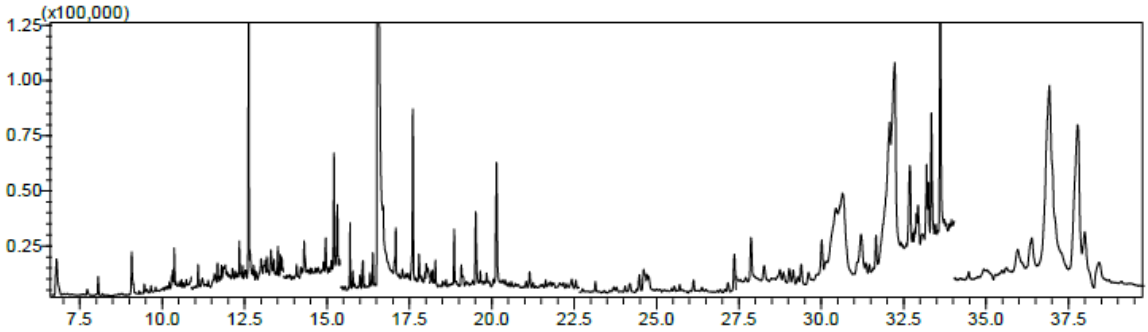
Barra do Boqueirão m cavernosa 1



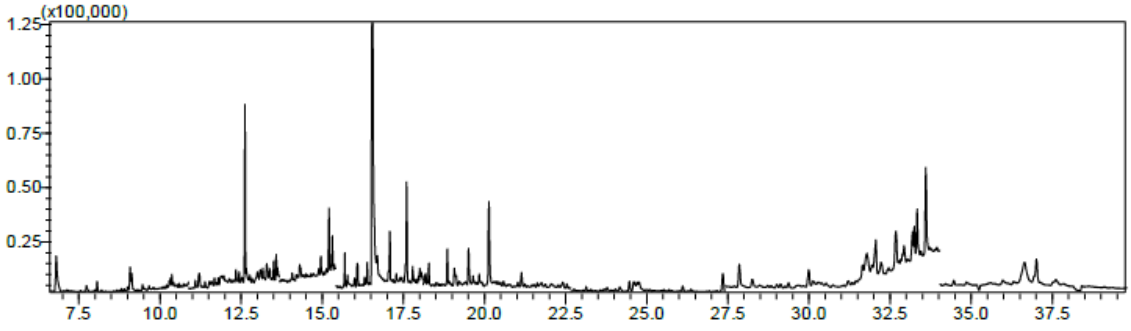
Barra do Boqueirão m cavernosa 2



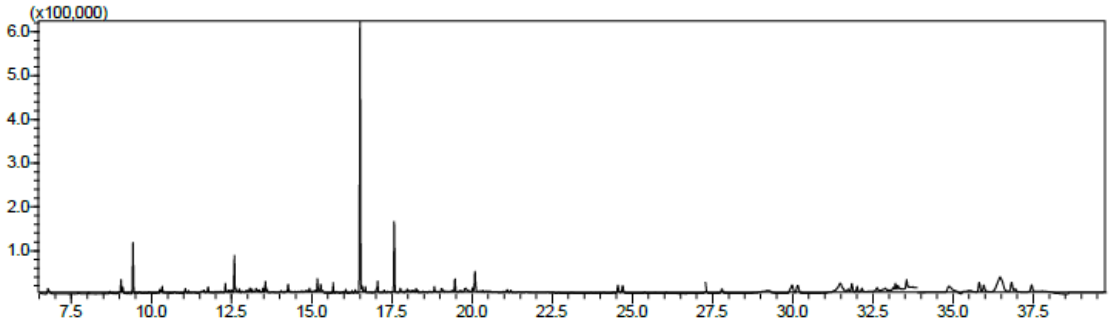
Barra do Boqueirão m hispida 1



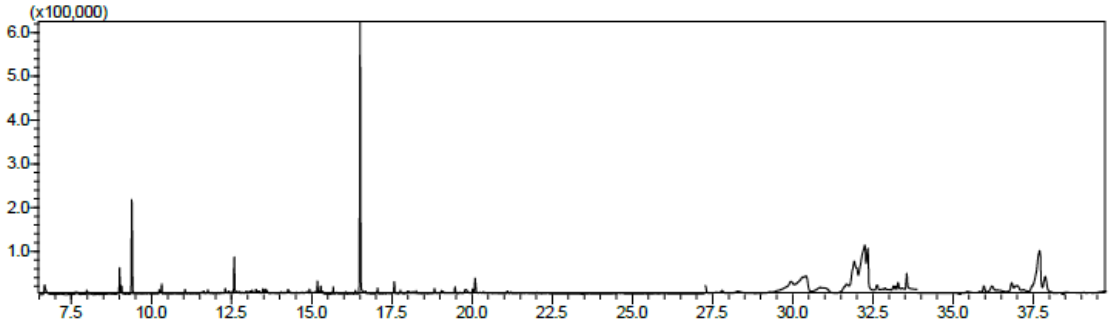
Barra do Boqueirão m hispida 2



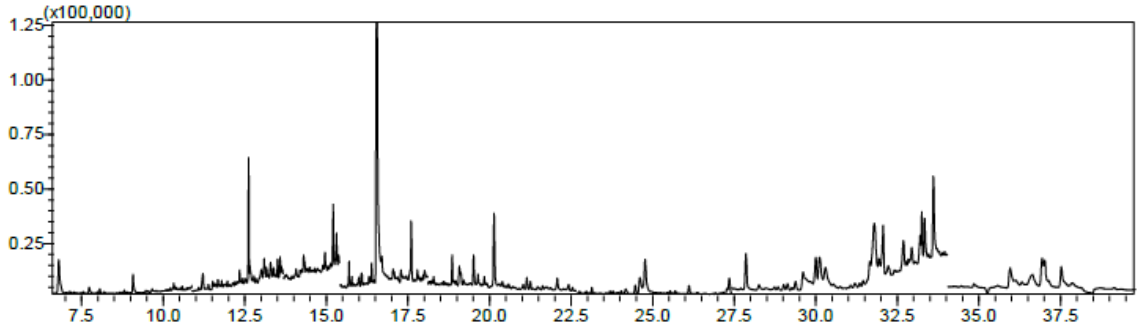
Barra do Boqueirão m hartti 1



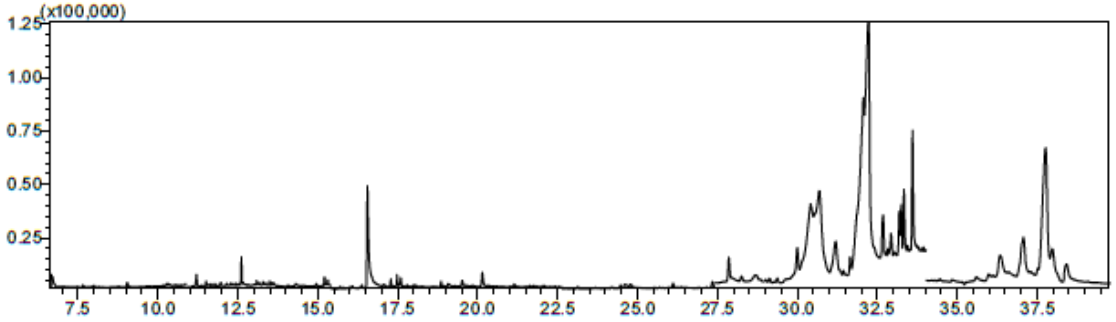
Barra do Boqueirão m hartti 2



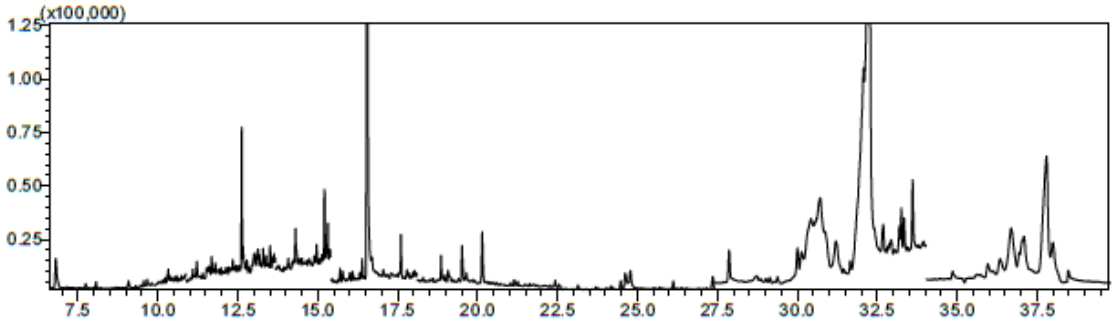
Aivia m hispida 1



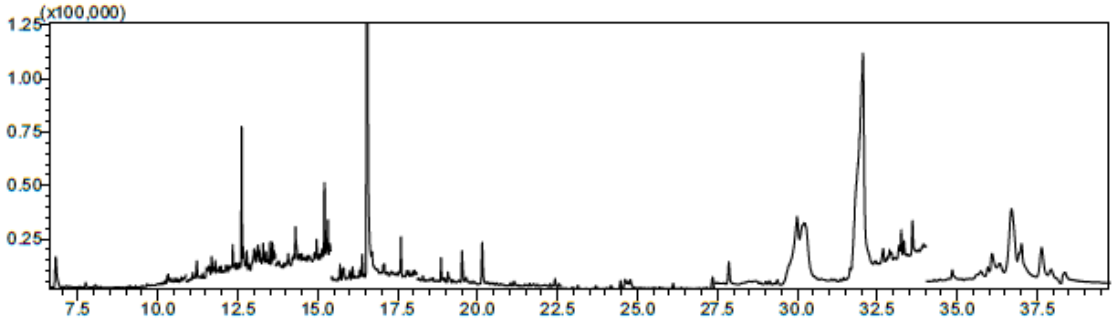
Aivia m hispida 2



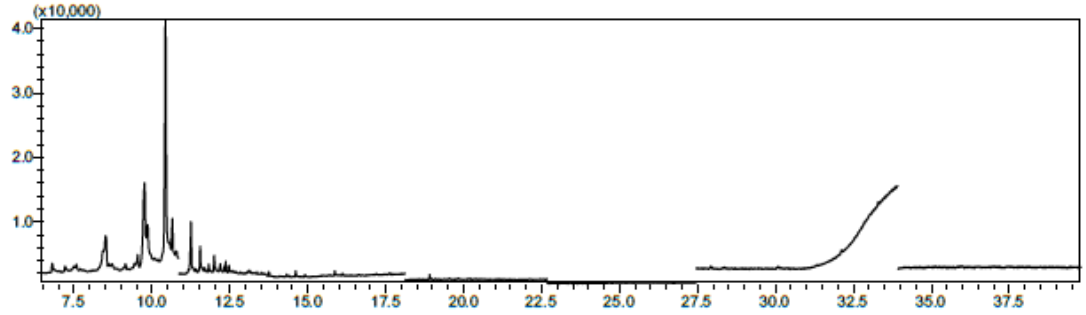
Aivia s stellata 1



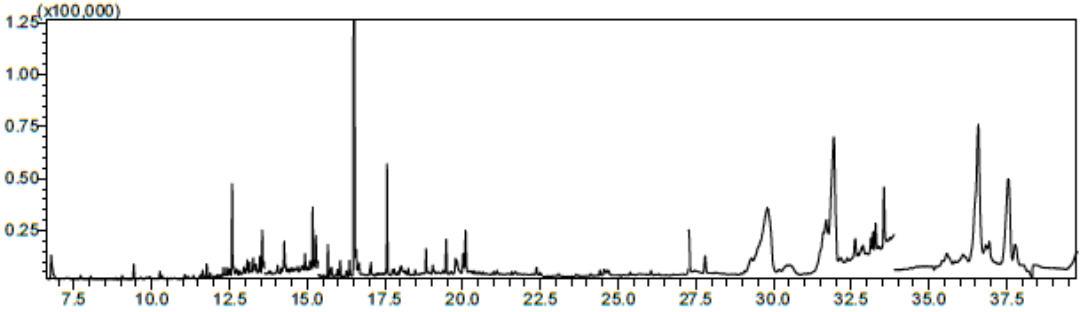
Aivia s stellata 2



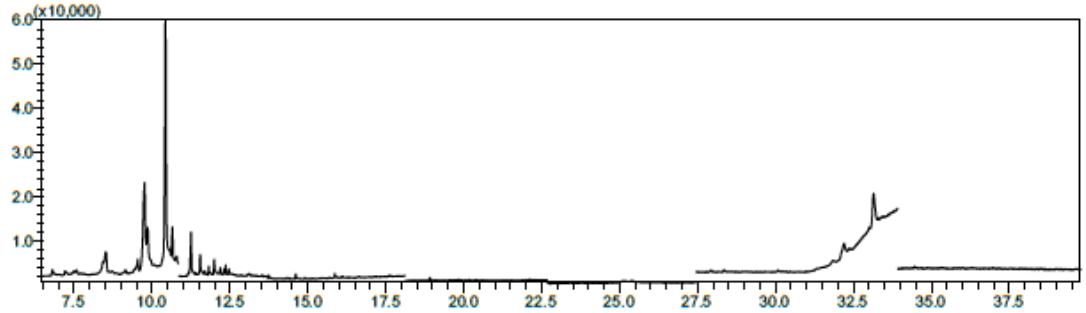
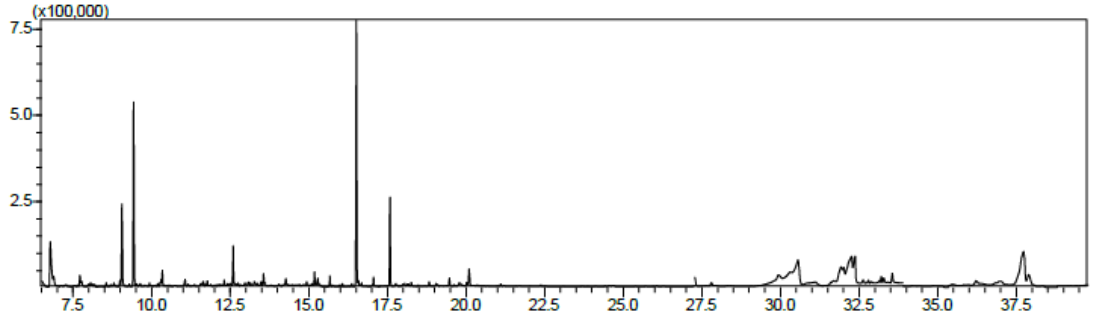
Japaratinga s stelatta 1



Japaratinga s stelatta 2



Japaratinga m cavernosa 1



Japaratinga m cavernosa 2