



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA

JOÃO ARTHUR BARROS DA SILVA

**METABÓLITOS DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA) NA
URINA DO CARANGUEJO-UÇÁ (*UCIDES CORDATUS*): INVESTIGAÇÃO EM
MANGUEZAIS PERNAMBUCANOS IMPACTADOS POR ÓLEO**

Recife

2024

JOÃO ARTHUR BARROS DA SILVA

**METABÓLITOS DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA) NA
URINA DO CARANGUEJO-UÇÁ (*UCIDES CORDATUS*): INVESTIGAÇÃO EM
MANGUEZAIS PERNAMBUCANOS IMPACTADOS POR ÓLEO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Oceanografia.

Orientadora: Dra. Eliete Zanardi Lamardo

Recife

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, João Arthur Barros da.

Métabólitos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na urina do caranguejo-Uçá (*Ucides cordatus*): investigação em manguezais pernambucanos impactados por óleo. / João Arthur Barros da Silva. - Recife, 2024.

60 : il., tab.

Orientador(a): Eliete Zanardi-Lamardo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Oceanografia - Bacharelado, 2024.

Inclui referências.

1. Contaminação ambiental. 2. Tamandaré. 3. Espectrofluorescência. 4. Estuários. 5. Recurso pesqueiro. I. Zanardi-Lamardo, Eliete. (Orientação). II. Título.

550 CDD (22.ed.)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA
BACHARELADO EM OCEANOGRAFIA**

Av. Arquitetura, s/n 50740-550
Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil
Fone: 81.2126-8746



ATA ESPECIAL Nº 54/2024

Aos vinte e oito dias do mês de março de dois mil e vinte e quatro, às 9h00min, reuniu-se a Banca Examinadora composta por Prof^a. Dr^a. Eliete Zanardi Lamardo, Orientadora e Presidente, Prof. Dr. Paulo Sérgio Martins de Carvalho (membro externo) e Dra. Julianna de Lemos Santana (membro externo), para apresentação do Trabalho de Conclusão do Curso de Oceanografia do aluno **JOÃO ARTHUR BARROS DA SILVA** tendo por título: **“Metabólitos de Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na Urina do Caranguejo-Uçá (Ucides Cordatus): Investigação em Manguezais Pernambucanos Impactados por Óleo”**. Dando início à reunião, a Orientadora e Presidente passou a palavra ao acadêmico, que fez a exposição do trabalho, respondendo, posteriormente, às perguntas formuladas pela Banca Examinadora. Encerrando os debates, a Banca Examinadora reuniu-se e considerou o aluno APROVADO, atribuindo-lhe a NOTA FINAL 9,8. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata que, após lida e achada conforme, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora, pelo acadêmico e pelo Secretário do Curso de Bacharelado em Oceanografia.

Recife, 28 de março de 2024.

Documento assinado digitalmente

gov.br

ELIETE ZANARDI LAMARDO

Data: 28/03/2024 17:59:27-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Eliete Zanardi Lamardo (9,8)_____

Orientadora e Presidente da Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente

gov.br

PAULO SERGIO MARTINS DE CARVALHO

Data: 28/03/2024 11:38:15-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Paulo Sérgio Martins de Carvalho (10,0)_____

Documento assinado digitalmente

gov.br

JULIANNA DE LEMOS SANTANA

Data: 28/03/2024 12:30:54-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Julianna de Lemos Santana (9,5)_____

Documento assinado digitalmente

gov.br

JOAO ARTHUR BARROS DA SILVA

Data: 28/03/2024 14:17:54-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Acad. João Arthur Barros da Silva _____

AGRADECIMENTOS

Penso que o trecho “me desorganizando posso me organizar”, da música Da Lama ao Caos, do grupo Nação Zumbi, reflete bem minha experiência enquanto graduando em Oceanografia. Como uma pessoa focada e dispersa, em proporções quase equivalentes, a oceanografia e sua multi / interdisciplinaridade me foram atrativas desde o início. Avancei no curso aproveitando diversas oportunidades, testando diferentes estágios, conhecendo linhas de pesquisa e novidades empolgantes. Assim como a maioria dos meus colegas, me apaixonei pelos embarques e aulas de campo, tendo gosto com as análises laboratoriais bem feitas e o desenvolvimento da maior parte dos relatórios, trabalhos e artigos. Nesse processo, para o famoso TCC, escolhi um projeto cuja proposta me empolgava, além de ter alinhamento com alguns valores pessoais. Entretanto, o acúmulo excessivo de escolhas e responsabilidades na vida pessoal e profissional, infelizmente, resultaram em um processo de esgotamento. Consequentemente, passei mais de um ano afastado do curso, pondo uma pausa nos objetivos tão obstinadamente perseguidos. Felizmente, me desorganizando, acabei por me reorganizar, e dentre outras coisas, a retomada da minha graduação foi possível. Apesar do monólogo acima, absolutamente nenhuma das etapas deste processo foi desenvolvida apenas por mim, e fazendo jus ao campo dos agradecimentos, há todo um grupo de pessoas que eu gostaria de agradecer pelo auxílio, direcionamento e camaradagem que me foram oferecidos durante todo esse tempo. Agradeço então a minha família e amigos pelo eterno incentivo e compreensão nos períodos complicados. À minha orientadora por todo o aprendizado, compreensão e acolhimento com meu afastamento e retorno à academia. Ao suporte financeiro das instituições de fomento no desenvolvimento de meus projetos, com bolsas concedidas pela PROPESQI, FACEPE e CNPq. Aos professores e colegas de curso e de laboratório, por somarem comigo neste processo de construção de conhecimento que é uma graduação. E, finalmente, aos meus mestres, de formação ou não, da capoeiragem, que tiveram papel importantíssimo em meu exercício de reorganização. Assim, sigo em frente com quem quiser, pois como diz a ladainha na voz de Contramestre Barata, “se quiser andar ligeiro, nessa vida ande só; mas se tu quer chegar longe, acompanhado é bem melhor”.

RESUMO

Apesar de amplamente investigada, a extensão do impacto decorrente do incidente do derrame de óleo de 2019, assim como suas consequências, ainda intrigam os pesquisadores brasileiros, especialmente os nordestinos. Este estudo buscou avaliar o possível efeito da chegada desse óleo sobre os caranguejos da espécie *Ucides cordatus*, em manguezais do município de Tamandaré. Para atingir este objetivo, foi investigada a presença de metabólitos de HPA em urina de caranguejos através da metodologia por espectrofluorescência. Apesar de ainda pouco utilizada, essa técnica é vantajosa do ponto de vista custo-benefício e é considerada eficiente em estudos de contaminação ambiental por óleo e seus derivados. Neste estudo foram investigados caranguejos de manguezais localizados no litoral norte e sul de Tamandaré, coletados nos dias 05 e 06 de novembro de 2021. Todas as amostras de urina coletadas apresentaram metabólitos de HPA em concentrações mensuráveis, evidenciando a contaminação existente nestes manguezais. As concentrações variaram de 45,45 a 397,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, em equivalentes de 1-OH-pireno, com uma tendência de maiores valores nos caranguejos do manguezal do Pontal de Ilhetas, localizado no estuário da Boca da Barra, litoral sul de Tamandaré. O tráfego de embarcações e o despejo de efluentes domésticos foram identificados como os principais contribuintes de óleo, potencializados pela atividade turística. A presença de outras possíveis fontes de contaminação também foi observada, tais como resquícios de óleo intemperizado, retidos nos sedimentos dos manguezais desde a ocorrência do incidente do óleo em 2019. Todos estes fatores e fontes contribuem para a presença de metabólitos de HPAs encontrados neste estudo. Considerando a eficiência e vantagens da técnica, sua disseminação é interessante, contribuindo para o estabelecimento de mais uma ferramenta útil aos estudos de contaminação ambiental, e sobre a saúde de crustáceos como o caranguejo Uçá.

Palavras-chave: Contaminação ambiental; Tamandaré; Espectrofluorescência, Estuários; Recurso pesqueiro.

ABSTRACT

Despite the range of impact and consequences of the 2019 oil spill has been widely investigated, Brazilian researchers still have questions, especially the northeasterners. This study investigated the possible effect of this oil on crabs of the species *Ucides cordatus*, in mangroves of Tamandaré city. To achieve this objective, the presence of PAH metabolites in crab urine was investigated, using spectrofluorescence technique. Although not commonly used in northeastern Brazil, this methodology has been applied in some studies around the world. It has the advantage of being cost-effective, and is considered efficient in studies of environmental contamination by oil and its derivatives. In this study, crabs from mangroves located on the north and south coasts of Tamandaré were investigated, captured on November 5 and 6, 2021. All the urine sampled had PAH metabolites in measurable concentrations evidencing the contamination in such mangroves. The concentrations ranged from 45.45 to 397.4 $\mu\text{g L}^{-1}$, in 1-OH-pyrene equivalents. The highest concentrations were found in crabs of the Pontal of Ilhetas mangrove, located at the Boca da Barra estuary, south coast of Tamandaré. Boat traffic and domestic effluents released in the area, in addition to the tourism activities were identified as the main contributors of the oil contamination process. The presence of other possible sources of contamination was also observed, such as remnants of weathered oil retained in the mangrove sediments since the oil incident in 2019. All these factors contributed to the presence of PAH metabolites found in the crabs analyzed in this study. Considering the efficiency and advantages of the methodology, its dissemination is interesting, as a contribution to the establishment of another useful tool for environmental contamination studies, and the health of crustaceans such as the Uçá crab.

Keywords: Environmental contamination; Tamandaré; Spectrofluorescence, Estuaries; Fishery resource.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Localização da Área de Estudo	25
Figura 02 - Manguezais estudados	26
Figura 03 – Equipe de Coleta	29
Figura 04 – Coletas de organismos	29
Figura 05 – Microcosmo	30
Figura 06 – Organismo coletado	30
Figura 07 –Coleta de urina	31
Figura 08 –Seringa com amostra	32
Figura 09 - Curva Analítica (faixa de 0 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$)	35
Figura 10 - Média de concentrações de metabólitos de HPA	41
Figura 11 - Distribuição das concentrações de metabólitos de HPA	44
Figura 12 – Concentrações individuais de metabólitos	45
Equação 01- Equação para o Preparo dos Pontos da Curva	34
Equação 02- Cálculo do ponto de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de concentração	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Dados de campo da coleta dos caranguejos	28
Tabela 02 - Concentrações de metabólitos	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA	Área de Proteção Ambiental
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
HCS	Hidrocarbonetos
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
K_{ow}	Coefficiente de partição n-octanol água
PELD	Programa de Pesquisa Ecológica de Longa Duração
PIBIC	Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica
POP	Procedimento Operacional Padrão
PRODETUR	Programa Nacional de Desenvolvimento e Estruturação do Turismo
ROS	Reactive Oxigene Species
ZATAN	Zoneamento Ambiental das Atividades Náuticas

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
1.1	ESTUÁRIOS E ZONAS COSTEIRAS	14
1.2	PETRÓLEO E OS HIDROCARBONETOS	15
1.2.1	HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA)	16
1.2.2	HPAs E SUA TOXICIDADE A ORGANISMOS VIVOS	17
1.3	RELEVÂNCIA DE ORGANISMOS SENTINELAS	19
1.4	HPAs NO NORDESTE BRASILEIRO E O DERRAME DE 2019	20
1.4.1	INOVAÇÃO NAS PESQUISAS DO NORDESTE BRASILEIRO	21
2.	OBJETIVOS	22
3.	METODOLOGIA	22
3.1	ÁREA DE ESTUDO	22
3.1.1	MANGUEZAL DO LITORAL NORTE	26
3.1.2	MANGUEZAIS DO LITORAL SUL	27
3.2	COLETA E TRANSPORTE DE ORGANISMOS	27
3.3	EXTRAÇÃO DE URINA	30
3.4	ANÁLISE DE METABÓLITOS DE HPA	32
3.4.1	IMPLANTAÇÃO DA METODOLOGIA DE ANÁLISE DE METABÓLITOS DE HPA EM URINA DE CARANGUEJOS	32
3.4.2	CURVA ANALÍTICA	33
3.4.3	LEITURA DAS AMOSTRAS DE URINA	35
4.	RESULTADOS e DISCUSSÕES	36
4.1	IMPLEMENTAÇÃO DA METODOLOGIA	36
4.2	CONCENTRAÇÕES DE METABÓLITOS	38

6.	CONCLUSÕES	47
7.	CONSIDERAÇÕES FUTURAS	48
8.	FINANCIAMENTO	49
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1. INTRODUÇÃO

1.1 ESTUÁRIOS E ZONAS COSTEIRAS

Os estuários podem ser definidos como corpos d'água semifechados que possuem conexão livre com o oceano; por essa característica, são considerados ambientes de transição sujeitos a influência de águas oceânicas e continentais (Cameron; Pritchard, 1963). Ambientes estuarinos apresentam uma combinação única de características biogeoquímicas que os tornam ecossistemas de extrema relevância para a manutenção da biodiversidade marinha e costeira. Eles também proveem diversos serviços ecossistêmicos como a ciclagem de nutrientes, filtragem de água, retenção de contaminantes, e proteção costeira, carregando um importantíssimo valor socioeconômico e cultural (Hallett *et al.*, 2016; McLusky; Elliott, 2004; Telesh; Khlebovich, 2010). Para as comunidades tradicionais ribeirinhas, os estuários proveem alimento e forma de sustento através dos recursos fornecidos. Nesse contexto, os pescadores e pescadoras usufruem de recursos, como o pescado, para consumo próprio e comercialização, mantendo sua cultura e modo de vida ancestrais, transmitidos de forma geracional dentro de sua comunidade (Guarim, 2000; Rocha *et al.*, 2008).

Embora os estuários sejam considerados retentores de contaminantes nas regiões costeiras, a urbanização em áreas adjacentes a estes ambientes os coloca em uma posição de risco e, em algumas situações específicas, pode ocorrer uma inversão desta característica: de sumidouro, passam a atuar no papel de emissores / exportadores de contaminantes (Cotovicz Junior, 2016; Maciel *et al.*, 2016). A pressão antrópica intensifica o processo de contaminação destes corpos d'água através da introdução de resíduos sólidos, efluentes domésticos, lixiviação de solos contaminados, entre outros fatores. Nessa perspectiva, a entrada de nutrientes e matéria orgânica no ecossistema aumenta drasticamente, acelerando um processo de eutrofização destes rios e estuários (Duarte *et al.*, 2004).

Um corpo d'água eutrofizado apresenta características como coloração alterada da água, cheiro característico de decomposição da matéria orgânica e baixos índices de oxigênio dissolvido, favorecendo a proliferação de microrganismos potencialmente causadores de prejuízos à biota local e ao consumo humano (Barreto *et al.*, 2013). Um exemplo de estuário impactado é observado no estuário do Rio Capibaribe, em

Pernambuco, caracterizado como altamente eutrofizado que, atualmente, atua também como um dos exportadores da poluição que lhe é imposta (Maciel *et al.*, 2015; 2016).

Em regiões tropicais, os estuários são comumente margeados por florestas de manguezais, que são exemplares de alguns dos ecossistemas mais produtivos do planeta. O manguezal desempenha um papel importante na ação de sequestro de carbono, com a característica de proteção e preservação do ambiente, fortalecida devido à presença arbórea. As espécies de árvores mais representativas do manguezal brasileiro são o mangue branco (*Laguncularia racemosa*), o mangue preto (*Avicennia germinans* e *Avicennia schaueriana*) e o mangue vermelho (*Rhizophora mangle*). Este grupo é notadamente adaptado às condições típicas dos estuários. As árvores apresentam ferramentas de osmorregulação para lidar com as variações de salinidade, e raízes características capazes de mantê-las estáveis em sedimento lamoso constantemente lavado pela ação da água doce e salgada.

Apesar de seu enorme valor ecológico, estima-se que cerca de 25% do manguezal brasileiro tenha sido destruído desde o século 20, impactados por fatores como a expansão urbana, poluição, desmatamento para exploração da madeira das árvores, agricultura, aquicultura, dentre outros. A poluição por óleo e petróleo tem causado grande interesse e preocupação para pesquisadores, agentes governamentais e ambientalistas, principalmente pelo amplo número de impactos que pode causar. Uma vez que diversas atividades podem resultar neste tipo de contaminação, esta tem sido recorrente, advinda de fatores como a atividade náutica, tráfego de veículos motorizados, derrames acidentais, atividade industrial e, inclusive, a contaminação por efluentes domésticos (Alves, 2001; ICMBIO, 2018; Nunes *et al.*, 2023).

1.2 PETRÓLEO E OS HIDROCARBONETOS

Dentre a complexa mistura de constituintes do petróleo, os hidrocarbonetos (HCs) são os mais abundantes, representando aproximadamente de 95-98% de sua composição. Essa presença substancial de HCs fundamenta seu uso como marcadores químicos da poluição e contaminação por petróleo (UNEP, 1992). Na investigação destes processos, o grupo dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) se destaca, pois a exposição a um único HPA ou um grupo destes compostos, pode ser extremamente danosa aos organismos vivos. Isto ocorre devido ao seu potencial

mutagênico, genotóxico e carcinogênico (Cabral, 2015; Chen *et al.*, 2022; Ewa *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2023; López-Berenguer *et al.*, 2023; Torreiro-Melo *et al.*, 2015).

Os acidentes com petróleo estão entre as mais alarmantes e significativas fontes de entrada dos HPA no ambiente, pois podem causar danos ecológicos expressivos e de grande envergadura. Além dos efeitos tóxicos associados aos compostos do petróleo, podem ocorrer alguns impactos físicos sobre a biota. Na região do nordeste brasileiro, o evento de contaminação por óleo mais preocupante da atualidade foi o derrame ocorrido no segundo semestre de 2019, que causou diversos prejuízos ecológicos nos ambientes atingidos, e motivou a realização de diversos estudos de cunho ambiental.

1.2.1 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA)

Os HPA são compostos exclusivamente formados por hidrogênio e carbono, apresentando 2 ou mais anéis aromáticos condensados. Eles podem ser originados de fontes pirolíticas, através da combustão incompleta de biomassa ou combustíveis fósseis, ou petrogênicas, com a introdução direta ou indireta de petróleo e/ou seus derivados, geralmente por ação antrópica (Caruso *et al.*, 2008; EUROPEAN COMMISSION, 2002). Dentre os processos de contaminação, os mais comuns ocorrem através da lixiviação de solos contaminados, deposição atmosférica, entrada de efluentes domésticos ou industriais, acidentes com embarcações, podendo se tornar disponível à biota local (Bícego *et al.*, 2009; Ravindra *et al.*, 2008; Zhu, 2003).

Estes compostos são hidrofóbicos e altamente lipofílicos, com baixa solubilidade em água, e alta afinidade por lipídios. O coeficiente de partição K_{ow} é uma ferramenta amplamente utilizada em estudos ambientais para avaliar a afinidade de compostos com matrizes orgânicas (Agostinho; Flues, 2006; Cabral, 2017). No caso dos HPA sua hidrofobicidade cresce proporcionalmente ao seu peso molecular. Compostos com baixo peso molecular com dois e três anéis aromáticos, possuem maior solubilidade em água e menores coeficientes de partição, tais como o naftaleno e o acenaftileno com $\log K_{ow}$ de 3,37 e 4,00, respectivamente. Compostos de 4 a 6 anéis apresentam valores de $\log K_{ow}$ mais elevados, como o pireno, com $\log K_{ow}$ 5,18, o benzo(g,h,i)perileno com $\log K_{ow}$ 6,50, e o dibenzo(a,h)antraceno com $\log K_{ow}$ 6,75. Estes HPA mais pesados apresentam maior hidrofobicidade e menor solubilidade em água (Barroso, 2010). O peso molecular dos HPA também define seu tempo de residência no ambiente aquático.

Em matriz sedimentar, o tempo de meia vida dos HPA pode se estender de alguns dias, à anos de permanência para os mais pesados (CETESB, 2001 apud Barroso, 2010).

Devido a estas características, no ambiente aquático, estes compostos tendem a se adsorver ao material particulado em suspensão na coluna d'água, e eventualmente, são depositados nos sedimentos (Agostinho; Flues, 2006). Embora sua remoção da coluna d'água aparente ser benéfica, sua deposição na cama de sedimentos apenas os torna disponíveis aos estratos da fauna bentônica. Seu caráter lipofílico/hidrofóbico amplifica seu potencial tóxico a estes organismos. Diversos guias de qualidade de sedimento apontam a presença destes compostos como uma ameaça ao bem-estar dos bentos, na forma de compostos individuais ou de misturas complexas (Jesus *et al.*, 2022; Mcgrath *et al.*, 2019; Wenning *et al.*, 2002).

Nesse contexto, a preocupação de pesquisadores e órgãos governamentais em relação aos HPA têm crescido exponencialmente nas últimas décadas. Eles têm sido incluídos em programas de monitoramento ambiental de diferentes países (Sampaio, 2016; Santos, 2017), e até mesmo em normativas de proteção ambiental. O Brasil não possui uma normativa que regulamente a presença destes compostos em sedimentos com vistas à proteção ambiental, mas a Resolução CONAMA nº 454 de 2012 estabelece as diretrizes e procedimentos gerais para o gerenciamento do material dragado em águas sob jurisdição nacional. Adicionalmente, a Resolução nº 430/2011 (complementa e altera a nº 357 de 2005), dispõe sobre a classificação e enquadramento de corpos de água, estabelecendo condições de lançamento de efluentes e outras providências. Ambas incluem os HPA em seus preceitos.

1.2.2 HPAS E SUA TOXICIDADE A ORGANISMOS VIVOS

O efeito danoso dos HPA para humanos também já foi observado em estudos prévios (Quezada-Maldonado *et al.*, 2021; Netto *et al.*, 2000; Samanta *et al.*, 2002). Investigações realizadas em humanos apontam a exposição à HPA como responsável recorrente pela ocorrência de doenças cardíacas, pulmonares, o desenvolvimento de câncer, dentre outras complicações. Especificamente no caso de fetos em formação, essa exposição pode causar defeitos nos tubos neurais nos tecidos cerebrais e na coluna vertebral, acarretando deficiências nestas estruturas (Guo *et al.*, 2022). Uma vez dentro de um organismo, os HPA podem interagir e modificar algumas macromoléculas através

das vias metabólicas, interferindo diretamente em processos como a síntese de DNA (Ewa *et al.*, 2017; Kennish, 1992).

Em organismos aquáticos, os efeitos subletais da contaminação por HPA são notadamente observáveis através de alterações comportamentais. Estas se refletem no desajuste de atividades essenciais à sua sobrevivência e sucesso reprodutivo, incluindo alterações no padrão natatório, aumento de susceptibilidade à predação, dificuldade de obtenção de alimento e alteração da capacidade de migração de retorno (*homing behavior*) (Little; Finger, 1990; Payne *et al.*, 2003; Scott; Sloman, 2004; Torreiro-Melo *et al.*, 2015). Entretanto, o potencial tóxico pode variar de acordo com o tempo de exposição, quantidade absorvida e complexidade da mistura (Netto *et al.*, 2000). As características do ambiente, como a morfologia local, hidrodinâmica e tipo de sedimento também são relevantes para essa variação.

Interações de moléculas de HPA com o DNA de organismos aquáticos foram reportadas para HPAs como o naftaleno e o benzo(a)pireno. Estes compostos induzem atividades enzimáticas de desintoxicação que produzem intermediários de reação denominados Espécies Reativas de Oxigênio, de sigla ROS, do termo original em inglês (Reactive Oxygen Species). Estes intermediários tendem a formar ligações covalentes com as fitas de DNA, tornando-se adutos estáveis à molécula, com alto potencial carcinogênico, e possibilidade de causar o rompimento das fitas de DNA (Sarkar *et al.*, 2008; Sarker *et al.*, 2018). Estudos realizados com organismos bentônicos evidenciaram a toxicidade dos HPA, com o surgimento de respostas carcinogênicas e mutagênicas após sua exposição à concentrações significativas destes contaminantes (Araújo, 2016; Koenig *et al.*, 2009; Fillmann *et al.*, 2004; Samanta *et al.*, 2002). Consequências mais específicas, como a indução à formação de micronúcleos, também foi apontada como uma resposta genotóxica à exposição de caranguejos aos HPA (Nudi *et al.*, 2010). O surgimento de macrolesões no DNA em hemolinfa de uma população de caranguejos também correlacionou positivamente com a contaminação crônica de seu habitat por HPA (Cabral, 2017).

Assembleias bentônicas evidenciam potenciais quedas na densidade populacional, biodiversidade e riqueza de espécies sob o estresse de contaminação por HPA (Schintu *et al.*, 2015). Neste cenário, o sucesso da proliferação de espécies oportunistas aumenta a densidade populacional de grupos como os nematodos e os polychaetas, comuns em estuários e manguezais pernambucanos (da Silva *et al.*, 2022).

Entretanto, apesar do sucesso destas espécies, a queda do índice de biodiversidade, se mantém prejudicial ao equilíbrio ecossistêmico destes ambientes.

Diante desta relação entre a contaminação ambiental e os efeitos apresentados pela biota local, algumas espécies passaram a assumir o papel de “espécies sentinela”. Estas espécies são utilizadas como bioindicadoras da presença de contaminantes e/ou poluentes em seu ambiente, possibilitando até mesmo diagnósticos precoces de contaminação ambiental (Berthet, 2015 apud Alves, 2020).

1.3 RELEVÂNCIA DE ORGANISMOS SENTINELAS

Organismos filtradores como os bivalves são ferramentas úteis e muito interessantes para a avaliação da saúde de ambientes costeiros como os estuários e manguezais, além de serem um recurso pesqueiro altamente explorado. Quando presentes em um ambiente contaminado, eles tendem a acumular os HPA em seus tecidos, criando uma via de exposição / contaminação para o ser humano e/ou para os seus predadores naturais. Em casos de exposições a concentrações subletais, os bivalves ainda conseguem depurar uma porção significativa dos contaminantes acumulados, se retirados do ambiente impactado e inseridos em local não contaminado (Fucik; Neff, 1977; Samiullah, 1985).

Além dos bivalves, outros organismos são também utilizados em programas de monitoramento da qualidade ambiental. Dentre os organismos que habitam os manguezais, os crustáceos compõem um grupo interessante do ponto de vista econômico e ecológico, devido ao seu alto teor de biomassa e o seu papel no fluxo energético (Amouroux, 2005). Deste grupo, pode-se destacar o caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*), que habita tanto o ambiente aéreo em contato com o solo, quanto ambientes úmidos e inundados, como os típicos manguezais de áreas estuarinas. Sua alimentação constitui-se de matéria orgânica (vegetal ou animal) em decomposição, misturados ao sedimento. Esses caranguejos são territorialistas e constroem suas galerias (tocas) em solos lodosos de mangue, onde permanecem a maior parte do tempo (Nordhaus *et al.*, 2009). As características supracitadas dessa espécie frequentemente os expõem a contaminantes presentes nos sedimentos dos manguezais (Pinheiro, 2001; Sampaio *et al.*, 2016). Este fato, associado a suas características comportamentais, abundância e facilidade de captura, tem tornado o caranguejo-uçá uma ferramenta interessante e

amplamente utilizada como organismo sentinela em estudos ambientais (Cabral, 2017; Sampaio *et al.*, 2016).

1.4 HPAS NO NORDESTE BRASILEIRO E O DERRAME DE 2019

No segundo semestre de 2019 ocorreu um derrame de grande porte, onde inúmeras manchas de óleo atingiram a costa brasileira, principalmente no litoral do Nordeste (Escobar, 2019). Mais de 100 municípios foram atingidos, e devido a sua extensão e impacto causado, este foi considerado o maior acidente com óleo no Brasil, e um dos maiores a nível global (Pena *et al.*, 2020). Mais de 5.000 toneladas de resíduos de óleo (óleo, folhas, areia, fragmentos de madeira, etc) foram retiradas do litoral brasileiro. Esse óleo atingiu ecossistemas costeiros como praias, recifes, manguezais e estuários, incluindo áreas de proteção ambiental (Lourenço *et al.*, 2020; Nunes *et al.*, 2023) e, nos anos seguintes (incluindo 2023), pequenos fragmentos de piche ainda foram observados e recolhidos em alguns ambientes costeiros (Azevedo *et al.*, 2022; Bérghamo *et al.*, 2023; Lima *et al.* 2023, Mello *et al.*, 2023).

Vários impactos decorrentes deste acidente foram reportados para a costa de Pernambuco. Dentre estes, pode-se citar a queda na abundância e biodiversidade de poliquetas e algas recifais na área da Praia do Paiva- PE (Craveiro, *et al.*, 2021), contaminação por HPA em moluscos, crustáceos e peixes ao longo da costa de Pernambuco (Magalhães *et al.*, 2022), e um decréscimo significativo no número de fêmeas da espécie de caranguejos recifais *Pachygrapsus transversus* em áreas das praias de Gaibu - PE, Carneiros - PE e Pontal de Coruripe – AL, todas impactadas pelo derrame de óleo (Santana *et al.*, 2022). Tais impactos levaram a investigação da vulnerabilidade econômica de comunidades nordestinas, especificamente as ribeirinhas, dependentes da saúde dos ambientes costeiros para o desenvolvimento de atividades turísticas e a segurança do setor alimentício baseado em recursos pesqueiros (Câmara *et al.*, 2021).

Uma das regiões mais impactadas foi o município de Tamandaré - PE, localizado a 109 km ao sul de Recife. Essa região é considerada um *hotspot* de biodiversidade (MMA, 2002), composta por ecossistemas de extrema importância ecológica, como manguezais, pradarias de fanerógamas e recifes costeiros. A região abriga a Área de Proteção Ambiental (APA) Costa dos Corais e APA de Guadalupe, e o Parque Marinho do Forte de Tamandaré. A riqueza ecológica deste local levou à inclusão do município

de Tamandaré no Programa de Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD) através do projeto PELD-TAMS – PELD Tamandaré: Dinâmica espacial e temporal da paisagem marinha: conectividade, resiliência e uso sustentável no sul de Pernambuco (CNPq 441632/2016-5; 442139/2020-9).

Devido à importância da região, diversos estudos têm sido desenvolvidos buscando avaliar a saúde do ambiente após o derrame do óleo. Foram investigadas a composição taxonômica, biomassa e biodiversidade do zooplâncton nos ecossistemas recifais (Brito-Lolaia *et al.*, 2020); a concentração e biodisponibilidade de gotículas de óleo acessíveis à ingestão da comunidade microzooplânctônica das plumas estuarinas, áreas recifais e baías de Tamandaré (Campelo *et al.*, 2021); as concentrações dos hidrocarbonetos de petróleo dissolvidos e/ou dispersos nas águas do estuário do Rio Formoso e na Praia de Tamandaré (Vitório *et al.*, 2022), o efeito da chegada do óleo bruto sobre a biomassa das angiospermas locais (da Silva Júnior *et al.*, 2022); dentre outros. Além do viés de proteção e preservação, os estudos se concentraram em assegurar a saúde dos recursos ecossistêmicos exploráveis, como espécies e ambientes de interesse ecológico/econômico, que apresentam certo valor para a região de Tamandaré e para o estado de Pernambuco. Dentre estes, os manguezais se destacaram como um dos ambientes de grande relevância devido sua complexidade e relevância em aspectos socioeconômicos e culturais.

1.4.1 INOVAÇÃO NAS PESQUISAS DO NORDESTE BRASILEIRO

Um estudo realizado no estuário do Rio Potengi, em 2015, observou que a contaminação por HPA dos sedimentos da loca de caranguejos uçá foi positivamente correlacionada com efeitos mutagênicos na hemolinfa destes indivíduos (Cabral, 2017). O *U. cordatus* faz parte do grupo de animais que consegue metabolizar os HPA, transformando-os em compostos polares mais fáceis de serem excretados através da urina. Seu hepatopâncreas atua de maneira similar ao fígado dos vertebrados, responsável pela biotransformação dos mais diversos compostos (Nudi *et al.*, 2007). Este processo de excreção torna a urina uma matriz interessante para avaliar as concentrações de exposição interna aos HPA por essa espécie.

Nas últimas décadas, alguns pesquisadores têm proposto investigar os metabólitos dos HPA em urina de caranguejos através da técnica de fluorescência (Dissanayake *et al.*, 2004, 2008, 2011; Galloway *et al.*, 2004; Nudi *et al.*, 2007; 2010). É

uma técnica rápida, com ótima relação custo – benefício e, embora avalie apenas a somatória dos metabólitos (não distingue os compostos individuais), fornece uma medida interna da presença desses contaminantes nos organismos. Ainda não há registros da aplicação desta técnica de análise em regiões do nordeste brasileiro, sendo interessante seu uso na investigação de cenários como o do derrame do óleo de 2019. Neste contexto, este estudo objetivou investigar a saúde de dois manguezais na região de Tamandaré (PE), que tem sua economia fortemente associada à atividade turística e a pesca, utilizando como parâmetro a presença de metabólitos de HPA na urina da espécie de caranguejo *Ucides cordatus*.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi investigar a presença de metabólitos de HPA na urina do caranguejo *Ucides cordatus* em dois manguezais pernambucanos atingidos pelas manchas de óleo em 2019. Para atingir esse objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram realizados:

- ❖ Implantação da metodologia analítica para a análise de metabólitos de HPA em urina de caranguejo através da técnica de espectrofluorescência, no laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos (OrganoMAR);
- ❖ Investigação da presença de metabólitos de HPA na urina de caranguejos *U. cordatus*, provenientes de duas áreas de manguezais do litoral sul de Pernambuco (estuário dos rios Formoso e Ilhetas-Mamucabas);
- ❖ Determinação do gradiente de contaminação das regiões estudadas, baseado nas concentrações de metabólitos encontradas na urina dos caranguejos.

3. METODOLOGIA

3.1 ÁREA DE ESTUDO

O município de Tamandaré possui aproximadamente 9 km de costa (Figura 01). O clima da região, inserida no litoral sul de Pernambuco, é tipicamente quente e úmido, com temperaturas médias anuais variando entre 25 e 30 ° C. A pluviometria é demarcada por períodos de chuva e estiagem, delimitados respectivamente de março a agosto, e

setembro a fevereiro (APAC, 2023; Moura, 1995). Nos manguezais da APA de Guadalupe são mais comumente encontrados representantes das espécies mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*), o mangue-branco (*Laguncularia racemosa*), o mangue-preto (*Avicennia schaueriana*) e o mangue-de-botão (*Conocarpus erectus*), além dos demais exemplares de fauna e flora não citados que habitam estes ambientes (Alves, 2001).

Na região norte de Tamandaré, encontra-se a desembocadura do Rio Formoso que, juntamente com o Rio dos Passos, Lemenho e Ariquindá, compõem o chamado Sistema Estuarino do Rio Formoso (SERF) (CPRH, 2011). Mais ao sul, encontra-se o Sistema Estuarino do Rio Mamucabas-Ilhetas (SEMI). O rio Ilhetas nasce a sudoeste do município do Rio Formoso, próximo à divisa com Tamandaré, e segue para sudeste até as proximidades da planície costeira, seguindo para nordeste (CPRH, 2001). O rio Mamucabas nasce a oeste da Reserva Biológica do Saltinho, onde é represado para formar o reservatório que abastece a cidade de Tamandaré. Ao aproximar-se da planície costeira, o Mamucabas segue no sentido sul até alcançar o Pontal de Ilhetas, encontrando-se com o rio de mesmo nome. A desembocadura conjunta formada pelo encontro destes dois rios é denominada Boca da Barra, com relevante valor socioeconômico devido a atividade turística e pesca de moluscos e crustáceos (Araújo, 2014; Botelho *et al.*, 1999; CPRH, 2001, 2018; Maida, 1997).

Segundo o último censo realizado pelo IBGE no ano de 2022, o município de Tamandaré conta com uma população de residentes fixos de aproximadamente 23.521 pessoas, com uma densidade demográfica considerada de média a alta, com aproximadamente 110 habitantes por quilômetro quadrado (IBGE, 2023). Apesar do número considerável de habitantes, o censo mais recente realizado referente a saneamento básico registra que apenas cerca de 17,9 % do município é contemplado com um serviço de esgotamento sanitário adequado (IBGE, 2023). Este dado aponta a situação precária da população e os ecossistemas incorporados e adjacentes ao território, expostos à pressão antrópica de poluição por efluentes contaminados.

De acordo com a plataforma digital gerenciada pelo Tribunal de Contas do Estado de Pernambuco, a economia de Tamandaré baseia-se principalmente no desenvolvimento de atividades agrícolas, com o cultivo de cana-de-açúcar, cereais, leguminosas, oleaginosas, entre outros, assim como a pecuária, o turismo e a pesca (Ferreira *et al.*, 2003, TCEPE, 2021). O turismo em Tamandaré, juntamente a outros

municípios da região, teve seu crescimento fortemente estimulado nas últimas décadas, impulsionado por iniciativas tanto públicas quanto privadas. Um exemplo é o Programa Nacional de Desenvolvimento e Estruturação do Turismo (PRODETUR) do Ministério do Turismo. O programa teve início na década de noventa e fomentou a criação de infraestruturas e a capacitação da população de diversos municípios, objetivando o desenvolvimento efetivo da atividade turística. Nesse contexto, Tamandaré apresenta estruturas destinadas ao turismo, como casas reservadas exclusivamente para a ocupação por turistas durante a temporada de veraneio (Ferreira *et al.*, 2003).

Esta dinâmica intensifica a pressão antrópica na região em períodos de férias e/ou feriados, aumentando a precariedade de serviços como o saneamento básico, que não tem capacidade de atender a própria população residente. Adicionalmente, no contexto da contaminação por óleo e seus derivados, estudos comprovam que a contaminação de ambientes aquáticos por HPA também pode ocorrer por meio da introdução de efluentes domésticos, advindo principalmente dos processos de cozimento, assados e frituras, que geram rejeitos e subprodutos que compõem os esgotos domésticos (Bícego *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2003). A presença dos turistas também aumenta exponencialmente a atividade náutica local com passeios e excursões, amplificando os índices de queima de combustíveis fósseis, outra fonte característica de HPA (Bícego *et al.*, 2009; Katsou *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2019; Yunker *et al.*, 2002).

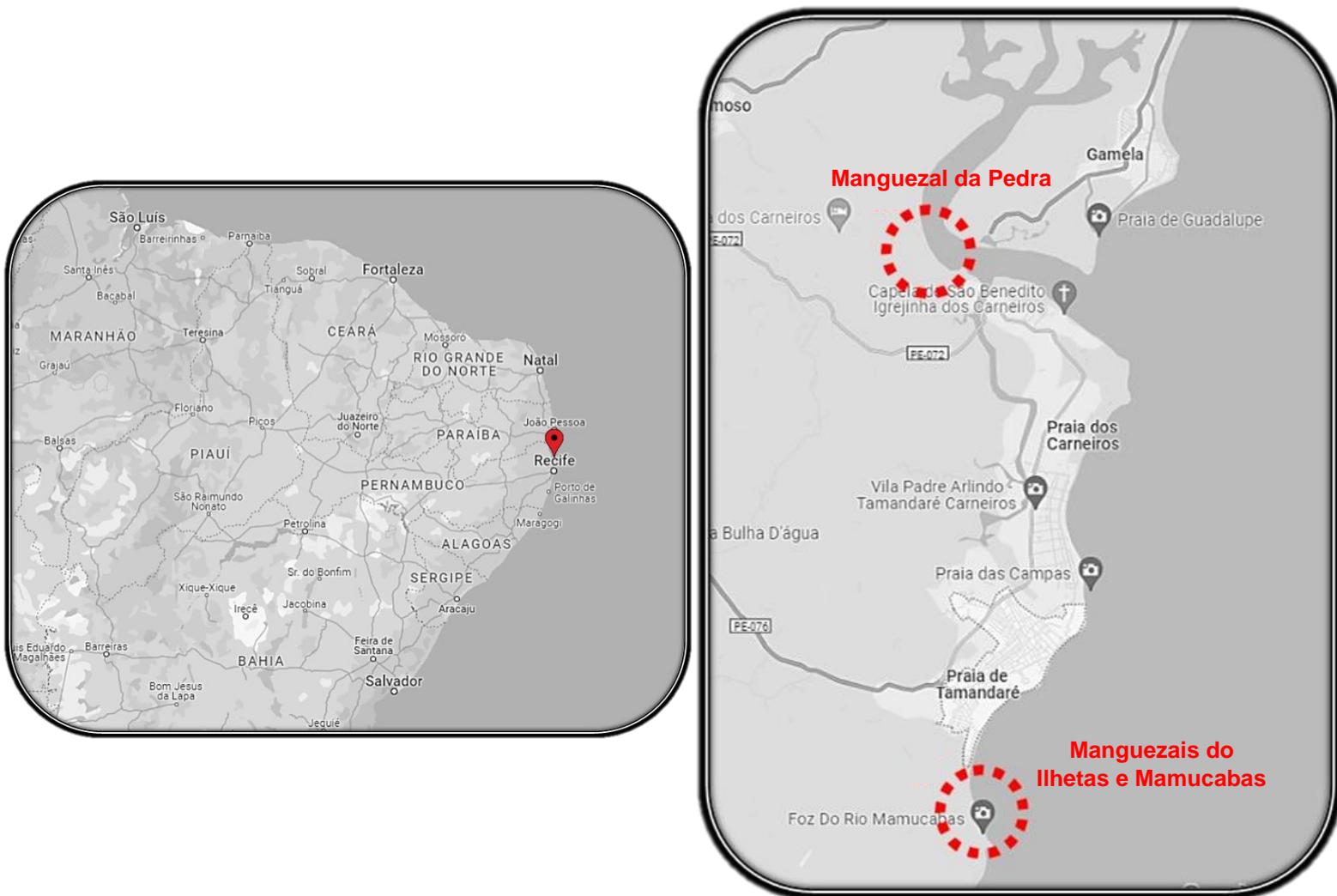


Figura 01 - Localização das áreas de estudo. Delineamento do litoral do município de Tamandaré e localização dos manguezais. M = manguezal.

Fonte: google Earth, o autor (2023).

Dentro desta região, foram selecionados para investigação, o manguezal da Praia da Pedra, situada na margem direita do Rio Formoso, onde foram registradas várias ocorrências de chegada do óleo; e a área da Praia Boca da Barra, na região dos manguezais dos rios Ilhetas e Mamucabas, que compartilham a mesma foz no Oceano Atlântico (Figura 02).

Área de estudo – Litoral Sul de Tamandaré



Área de estudo – Litoral Norte de Tamandaré



Figura 02 - Localização dos manguezais estudados e os rios que os banham. Os marcadores indicam os manguezais de coleta e as setas de indicação dos rios apontam o sentido de fluxo dos mesmos

Fonte: google Earth, o autor (2023).

3.1.1 MANGUEZAL DO LITORAL NORTE

A área da Praia da Pedra, localizada às margens do Rio Formoso, é classificada como uma das subzonas de praia estuarina do canal do rio Formoso, segundo a Cartilha de Zoneamento Ambiental das Atividades Náuticas (ZATAN) da Região do Estuário do Rio Formoso (SEMAS, 2021). Este é um dos vários ambientes que sustentam a pesca

no município de Tamandaré, além de ter seu destaque como área de lazer bastante frequentada por turistas e pela população local. Segundo a ZATAN, na Praia da Pedra são incentivadas a realização de atividades como passeios e trilhas para pedestres e veículos não motorizados, passeios turísticos em embarcações pequenas e ações de estímulo à preservação e utilização sustentável do local (SEMAS, 2021). Desta forma, considerando a importância da região e a chegada das manchas de óleo no local, esta foi escolhida para investigar o nível de contaminação por HPA nos caranguejos do manguezal adjacente.

3.1.2 MANGUEZAIS DO LITORAL SUL

Foram escolhidos dois manguezais adjacentes à Boca da Barra, inseridos na mesma área estuarina, o Mangue do Mamucabas e o Pontal de Ilhetas. A área da praia adjacente tem fluxo turístico menor, mais frequentada por famílias. A atividade de pesca / coleta de organismos é mais intensa, principalmente por moradores locais. A escolha foi baseada principalmente pelos registros da chegada de óleo, que ocorreu visivelmente apenas no Rio Mamucabas. Além disso, relatos recentes sobre o lançamento de esgoto in natura no Rio Mamucabas despertaram o interesse na avaliação da saúde destes ambientes.

3.2 COLETA E TRANSPORTE DE ORGANISMOS

A Portaria nº133/2002 do IBAMA, revogada pela Portaria nº 34/2003, proíbe a utilização de qualquer tipo de armadilha, instrumento, ferramenta cortante e produtos químicos na captura do caranguejo-uçá no estado de Pernambuco. A legislação proíbe a captura de qualquer indivíduo com largura de carapaça inferior a 6 cm, e é vetada sua captura nos períodos de andada e defeso, compreendidos entre 1º de dezembro e 31 de maio. Adicionalmente, para a realização de estudos com estes organismos, é necessária a solicitação de um documento oficial do Sisbio, autorizando a coleta dos *Ucides cordatus*, com finalidade científica. Considerando a regulamentação apresentada, a captura dos caranguejos foi realizada nos dias 05 e 06 de novembro de 2021. A coleta foi feita em período de maré de sizígia (lua nova), nos momentos de primeira baixa-mar,

apresentando amplitudes de maré de 2,4 e 2,5 metros, respectivamente nos dias de coleta.

Um catador de caranguejos profissional foi contratado para a captura dos caranguejos Uçás, mas contou com o apoio do autor deste estudo, duas doutorandas e uma pós-doutoranda, todos integrantes da equipe do laboratório OrganoMAR (Figura 03). A técnica realizada para a captura foi o “braçamento”, que consiste na introdução do braço do catador diretamente na toca, onde o animal é capturado pela região dorsal ou pela maior quela (Figura 04). Em cada região foram coletados 10 indivíduos de dentro de suas locas, e as informações do local de coleta, data e sexo de cada indivíduo foram anotadas (Tabela 01).

Tabela 01 - Dados de campo da coleta dos caranguejos.

Local	Data de coleta	Latitude	Longitude	Sexo
Ilhetas	05/11/2021	8°47'15,9"	35°6'16,83"	F
Ilhetas	05/11/2021			F
Ilhetas	05/11/2021			M
Ilhetas	05/11/2021			F
Ilhetas	05/11/2021			M
Ilhetas	05/11/2021			M
Ilhetas	05/11/2021			M
Ilhetas	05/11/2021			M
Ilhetas	05/11/2021			M
Ilhetas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021	8°47'2,96"	35°6'20,46"	M
Mamucabas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021			F
Mamucabas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021			M
Mamucabas	05/11/2021			M
Pedra	06/11/2021	8°40'54,87"	35°6'52,48"	M
Pedra	06/11/2021			M
Pedra	06/11/2021			M
Pedra	06/11/2021			F
Pedra	06/11/2021			M
Pedra	06/11/2021			M
Pedra	06/11/2021			M
Pedra	06/11/2021			M
Pedra	06/11/2021			M
Pedra	06/11/2021			F



Figura 03: Equipe de coleta do OrganoMAR em campo.

Fonte: o autor (2022).



Figura 04: Coleta de organismos; a- catador se dirigindo ao local de coleta, b e c - coleta de caranguejos pela técnica de “braçamento”.

Fonte: o autor (2022).

Após a captura, os caranguejos foram transportados em um microcosmo criado em recipientes plásticos previamente lavados com a própria água do ambiente, contendo folhas do mangue e um pouco de água local (Figura 05). Os indivíduos foram fisicamente restritos, com tiras retiradas das cascas das árvores de mangue pelo catador, identificados (Figura 06) e cuidadosamente colocados no microcosmo. Este cuidado com o transporte dos caranguejos provavelmente diminui o estresse dos caranguejos, que

poderia levar à agressividade dos organismos, perda dos seus apêndices, eliminação da urina e até mesmo a morte dos indivíduos (Legat ; Legat, 2009). Ao final de cada coleta, os organismos foram imediatamente encaminhados ao laboratório para a extração da urina.



Figura 05: Microcosmo de transporte - caixa plástica contendo folhas e galhos de mangue e água coletada nos arredores das locas.

Fonte: o autor (2022).



Figura 06: Captura e identificação com etiqueta dos espécimes de caranguejo.

Fonte: o autor (2022).

3.3 EXTRAÇÃO DE URINA

Após a chegada à base de apoio, os caranguejos foram retirados do microcosmo de transporte e colocados em uma caixa térmica com gelo, para desacelerar seu metabolismo. Este procedimento facilita a extração das amostras de urina, que devem ser retiradas com o organismo ainda vivo (Bamber; Naylor, 1997). Após atingirem um estado de dormência, os caranguejos foram individualmente retirados do gelo, a largura de carapaça foi medida e os mesmos foram posicionados na bancada de trabalho para a extração da urina. Os terceiros maxilípedes foram cuidadosamente afastados, utilizando-se uma pinça histológica fina para permitir o acesso ao opérculo da glândula antenal. A elevação do opérculo da glândula antenal com o auxílio de uma agulha histológica desencadeia a extrusão natural da urina, que foi coletada com o auxílio de uma seringa de insulina de volume variável (10 – 1000 μL). Neste estudo foram utilizadas agulhas hipodérmicas de calibre 26g – 13x0,45mm (Figuras 07 e 08). Para a utilização dessa técnica, é necessária a obtenção de um volume mínimo de 20 μL (Barbosa, 2005).



Figura 07: Coleta de amostra de urina de uma fêmea do mangue do Mamucabas.

Fonte: o autor (2022).



Figura 08: Seringa de insulina contendo uma amostra de urina recém coletada.

Fonte: o autor (2022).

As amostras foram transferidas para tubos criogênicos descontaminados e armazenados em nitrogênio líquido durante seu transporte ao laboratório, onde foram mantidas em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises. Muitos dos interferentes analíticos são eliminados na própria formação da urina, em um processo de ultrafiltração, concentrando os metabólitos e facilitando a sua análise.

3.4 ANÁLISE DOS METABÓLITOS DE HPA

3.4.1 IMPLANTAÇÃO DA METODOLOGIA DE ANÁLISE DE METABÓLITOS DE HPA EM URINA DE CARANGUEJOS

Para a implantação da metodologia foi realizado, primeiramente, um levantamento bibliográfico minucioso da literatura acadêmica referente a esta técnica de análise (Barbosa, 2005; Dissanayake *et al.*, 2004, 2008, 2011; Fillmann *et al.*, 2002, 2004; Galloway *et al.*, 2004; Koenig *et al.*, 2008, 2009; Nudi *et al.*, 2010; Watson *et al.*, 2004a,b). Desta forma, os vários parâmetros foram identificados nos diferentes estudos, e as vantagens e desvantagens de cada escolha foram avaliadas, antes da implantação da

metodologia no OrganoMAR. Esta atividade fez parte de um projeto PIBIC (CNPq 210116284/2020) desenvolvido pelo autor deste trabalho.

Com o levantamento realizado, foram identificados e catalogados os componentes mais comuns nas literaturas, a serem implementados na metodologia do laboratório. Dessa maneira, foi especificado o padrão analítico (1-OH-pireno), o fator de diluição e par de comprimentos de onda, com os resultados quantificados e expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$ equivalentes a 1-OH-pireno. As leituras de fluorescência são realizadas no par de comprimentos de onda de 342 / 382 nm para excitação / emissão (Dissanayake *et al.*, 2004, 2008, 2011; Fillmann *et al.* 2002, 2004; Watson *et al.*, 2004 a,b). O fator de diluição variou entre os estudos investigados no levantamento, mas foi definido que para caranguejos expostos a HPA, o mínimo de diluição urina : solvente (etanol / Milli-Q water 50 % (1:1, v:v)) é de 1:20 para análises utilizando o pireno como referência. Estes volumes de diluição são considerados suficientes para minimizar a leitura de interferentes (Fillmann *et al.*, 2004).

Embora tenham sido desenvolvidos relativamente poucos estudos, é possível afirmar que a eficácia da técnica de análises de metabólitos de HPA por fluorescência em amostras de urina de caranguejos tem sido comprovada. Este levantamento bibliográfico permitiu concluir que esta metodologia é de rápida execução, produz resultados confiáveis e é relativamente barata (alto custo-benefício). Além disto, indica o nível de contaminação do ambiente, assim como a biodisponibilidade dos contaminantes, uma vez que expressa uma medida química interna do organismo. Isso a classifica como uma ótima escolha de metodologia para estudos utilizando caranguejos como organismos sentinelas na investigação de contaminação ambiental por HPA. Por isso, foi eleita como técnica de análise para os estudos realizados nos manguezais de Tamandaré.

3.4.2 CURVA ANALÍTICA

Uma curva analítica foi preparada com uma série de diluições do padrão 1-OH-pireno ($\mu\text{g L}^{-1}$), nas concentrações 5, 10, 25, 50, 100, 200 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. A solução de Etanol : Água Milli-Q 50% (1:1, v:v) foi utilizada para a diluição do padrão. Os pontos da curva foram preparados utilizando uma solução de trabalho previamente preparada em

laboratório, de concentração 10.000 µg L⁻¹. Dessa maneira, os pontos foram preparados através da seguinte fórmula (Equação 01):

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Equação 01: equação genérica de relação concentração x volume para o preparo dos pontos da curva.

Fonte: o autor (2024).

Nesta equação, o termo “C₁” é conhecido, representando a concentração do padrão de 1-OH-pireno presente na solução trabalho. “C₂” representa a concentração a ser preparada, e “V₂” o volume predeterminado da solução. Assim, “V₁” se torna a incógnita da fórmula, representando o volume da solução de trabalho necessário para se obter a concentração desejada no ponto da curva. Citando um exemplo, para o preparo do ponto da curva de concentração 500 µg L⁻¹, em 10 mL de solução, partindo de uma solução de trabalho com concentração de 10.000 µg L⁻¹, são necessários 500 µL da solução trabalho (Equação 02):

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$10.000 \mu\text{g L}^{-1} \times V_1 \text{ mL} = 500 \mu\text{g L}^{-1} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 \text{ mL} = (500 \mu\text{g L}^{-1} \times 10 \text{ mL}) / 10.000 \mu\text{g L}^{-1}$$

$$V_1 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{L}$$

Equação 02: desenvolvimento da equação para o cálculo da solução do ponto da curva de concentração 500 µg L⁻¹.

Fonte: o autor (2024).

O mesmo raciocínio foi aplicado para o preparo dos demais pontos da curva. Uma nova curva foi preparada para cada lote analítico. A faixa de concentrações reportada pela literatura normalmente tem como limite máximo a concentração de 200 µg L⁻¹ (Dissanayake *et al.*, 2004, 2008, 2011; Fillmann *et al.* 2002, 2004; Watson *et al.*, 2004 a,b); entretanto, devido a área ter sido exposta às manchas de óleo do derrame de 2019, a faixa de concentrações neste estudo foi ampliada para 500 µg L⁻¹ (Figura 09).

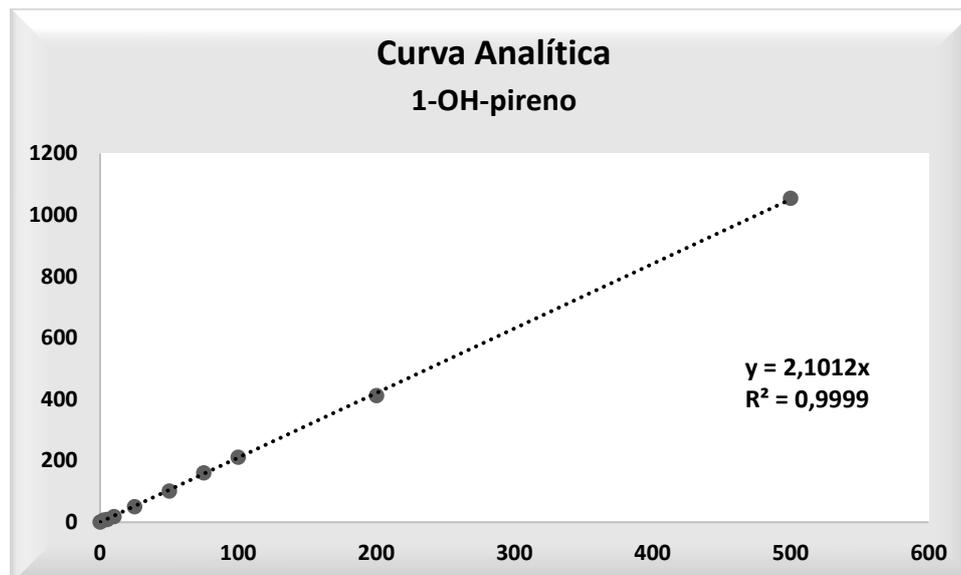


Figura 09: Analítica (faixa de 0 a 500 µg L⁻¹) preparada no dia 30 / 03 / 2022, para o cálculo das concentrações de metabólitos de HPA na urina dos caranguejos

Fonte: o autor (2022).

As leituras das soluções da curva e amostras de urina foram realizadas no equipamento Espectrofluorímetro, da marca Hitachi High-Tech Science, modelo: F-7100. Foram utilizadas cubetas de quartzo para acomodar as soluções-padrão e as amostras e o par de comprimento de ondas selecionado para a leitura da fluorescência foi 342 / 382 nm, para excitação / emissão, respectivamente. Antes de cada leitura as cubetas foram lavadas com os solventes orgânicos metanol e diclorometano grau pesticida para remover qualquer resíduo de água e possíveis interferências por contaminação, seguida por um enxágue com a solução de etanol / água Milli-Q 50 % (1:1, v:v) para aclimatar o recipiente. As concentrações foram calculadas segundo a equação da reta gerada pela curva analítica

3.4.3 LEITURA DAS AMOSTRAS DE URINA

Antes da leitura, as amostras de urina (25 µL) foram diluídas numa proporção de diluição 1:20 (v:v) com uma solução de etanol / água 50% (1:1, v:v) (item 2.4.1), totalizando um volume final de 525 µL. As leituras da fluorescência e os cálculos das concentrações dos metabólitos dos HPA na urina dos caranguejos foram realizadas conforme descrito no item 3.4.2. O fator da diluição aplicado inicialmente foi corrigido

multiplicando as concentrações obtidas na curva por 21, obtendo-se as reais concentrações dos metabólitos presentes na urina dos caranguejos.

4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

4.1 IMPLEMENTAÇÃO DA METODOLOGIA

O levantamento bibliográfico realizado para a implementação da metodologia de análise de metabólitos de HPA em urina de caranguejos (projeto PIBIC – CNPq 210116284/2020) gerou um protocolo de Procedimento Operacional Padrão (POP), disponível no site do OrganoMAR. Este protocolo foi utilizado como material de referência para o desenvolvimento das análises deste trabalho. Os resultados obtidos nas diversas concentrações das curvas foram plotados no formato de gráfico de dispersão, verificando o coeficiente de regressão (r^2) e a equação da reta para quantificação dos metabólitos nas amostras de urina. As curvas preparadas para o cálculo das amostras durante este estudo obtiveram $r^2 \geq 0,999$ (0,9990 a 0,9999), e estão de acordo com o proposto na literatura ($\geq 0,995$) (Neyman, 1955).

A análise de metabólitos de HPA por fluorescência resulta numa somatória de compostos que fluorescem naquele determinado par de comprimentos de onda. Isto pode ser visto como uma desvantagem para o emprego desta metodologia em amostras ambientais. Entretanto, apesar da técnica não prover respostas individuais para cada HPA, o resultado gerado expressa a medida de exposição de organismos aos HPAs no ambiente. Esta metodologia também permite a distinção entre ambientes limpos e contaminados por óleo e/ou seus derivados, e permite identificar gradientes de contaminação. Além disso, de acordo com os objetivos de cada estudo, a análise de metabólitos por fluorescência pode apresentar diversas vantagens. Em relação a outros métodos analíticos mais detalhados, como a cromatografia, a análise por fluorescência possui menor custo, maior facilidade e simplicidade de execução, e rapidez na obtenção dos resultados (Barbosa, 2005; Koenig *et al.*, 2008; Watson *et al.*, 2004a).

Considerando também a intenção de preservar a integridade dos caranguejos estudados, a análise destes contaminantes em matrizes biológicas como a urina ou a hemolinfa são vantajosas. A escolha destas matrizes possibilita a não interferência sobre a saúde dos organismos, enquanto proporciona dados referentes à exposição destes

aos compostos analisados, e a biodisponibilidade dos contaminantes em questão (van Oosterom *et al.*, 2010). Dessa maneira, a análise da urina de caranguejos oferece uma grande vantagem sobre outros compartimentos biológicos, pois é uma medida biológica não destrutiva de coleta bastante simples, com a possibilidade de preservação e devolução dos espécimens ao seu habitat natural.

A urina, como produto final do processo de metabolização em via de excreção, é um fluido pré-filtrado. Entretanto, ainda é possível que esta apresente interferentes que poderiam prejudicar a confiabilidade da análise de fluorescência. Isto é denominado efeito matriz, que consiste na leitura simultânea de interferentes junto aos analitos de interesse (Muniz, 2015). A presença destes interferentes pode inibir ou aumentar a emissão de luz do extrato, alterando a resposta obtida (Barbosa, 2005). Entretanto, a diluição da urina preconizada pela literatura (1:20; v:v) com a solução de etanol 50% é considerada suficiente para evitar o efeito matriz nas amostras de urina de caranguejo.

A relevância do uso da urina como uma matriz biológica capaz de concentrar contaminantes ou os seus metabólitos foi reforçada em estudos realizados com a espécie de caranguejo *Scylla serrata* (Negri *et al.*, 2009; van Oosterom *et al.*, 2010). Amostras de tecido muscular desta espécie foram analisadas para avaliar a contaminação por HPA através da técnica de cromatografia líquida, mas foram obtidas concentrações abaixo do nível de detecção do equipamento (Negri *et al.*, 2009). No ano seguinte, o estudo foi repetido, mas desta vez foram investigados os metabólitos na urina destes organismos (van Oosterom *et al.*, 2010). As concentrações observadas foram suficientemente altas para serem quantificadas, e os autores concluíram que produtos das vias metabólicas, como a urina, podem ser mais apropriados em estudos de exposição e absorção de HPA por caranguejos.

Baseado nestas razões, acredita-se que a técnica de análise de metabólitos de HPA em urina de caranguejos para investigar processos de contaminação ambiental apresenta grande custo-benefício em relação às análises mais específicas e dispendiosas. É relevante citar que os bioensaios e/ou os estudos de exposição controlada aos contaminantes, com análise concomitante nos metabólitos na urina, podem auxiliar no entendimento da capacidade de acumulação / metabolização destes organismos. De maneira complementar, estudos ecotoxicológicos, onde os efeitos são avaliados, permitem inferir se os níveis de contaminação encontrados no ambiente devem ser considerados de alto risco para as espécies de interesse.

4.2 CONCENTRAÇÕES DE METABÓLITOS

Foram descartados 3 caranguejos coletados no manguezal do estuário do Rio Mamucabas pois chegaram ao laboratório com as bexigas vazias, impossibilitando a coleta das respectivas amostras de urina. Este fato ocorreu mesmo seguindo o procedimento de coleta e transporte de caranguejos (item 3.2). Não foi possível determinar se estes indivíduos liberaram a urina durante o transporte, ou se foram capturados com as bexigas já vazias. Entretanto, um motivo plausível para esta perda foi o prolongado período de espera entre o momento de captura e a coleta da urina, que possivelmente elevou o estresse dos caranguejos coletados neste estuário. Por questão de logística, as coletas dos organismos na região da Boca da Barra foram realizadas no mesmo dia, começando no mangue do Mamucabas e, na sequência, o de Ilhetas. Esta coleta dupla provavelmente ocasionou um aumento de estresse dos caranguejos do primeiro manguezal dentro do microcosmo de transporte, o que poderia ocasionar a liberação da urina de alguns indivíduos.

Todas as amostras de urina de caranguejo coletadas apresentaram metabólitos de HPA. A proporção entre machos e fêmeas não foi levada em consideração no momento de captura, sendo observada posteriormente uma predominância de indivíduos machos nos três manguezais. As concentrações dos metabólitos no conjunto geral de amostras coletadas dos caranguejos de Tamandaré, expressas como equivalentes de 1-OH-pireno, variaram entre 45,45 e 397,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os caranguejos do Pontal de Ilhetas apresentaram as maiores concentrações, variando entre 73,47 e 397,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Nos organismos coletados no mangue do Mamucabas as concentrações variaram de 53,23 a 213,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ e, no mangue da Praia da Pedra, entre 45,45 e 247,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tabela 02).

Tabela 02: Concentrações de metabólitos de HPA nas amostras de Urina ($\mu\text{g L}^{-1}$ equivalentes ao 1-OH-pireno). Medidas de média, mediana, desvio padrão e percentual de desvio padrão relativo. “C” = caranguejo.

Caranguejos	Pontal de Ilhetas	Mamucabas	Praia da Pedra
C-01	73,47	45,45	53,23
C-02	102,8	52,59	58,40
C-03	106,1	66,77	68,76
C-04	111,2	89,60	87,77
C-05	113,5	189,1	102,2
C-06	127,6	217,4	102,6
C-07	219,5	247,3	128,7
C-08	263,9	-	144,2
C-09	353,2	-	168,7
C-10	397,4	-	213,7
Média	186,9	129,7	112,8
Mediana	120,6	89,60	102,4
Desvio Padrão	115,5	85,29	51,46
Desvio Padrão (rel)	62%	66%	46%

Fonte: o autor (2022).

Os caranguejos coletados no mangue do Ilhetas também apresentaram a maior amplitude, com um delta de $323,9 \mu\text{g L}^{-1}$. O Mamucabas apresentou uma dispersão (desvio padrão relativo de 66%), ligeiramente superior aos 62% observados para o Ilhetas (66 %). Por outro lado, os dados do mangue da Pedra apresentaram uma distribuição mais homogênea (46 %). A menor concentração mediana foi registrada no Mamucabas, representando cerca de 88% da concentração mediana reportada para o Mangue da Pedra, e 75% do valor encontrado para o Ilhetas, sugerindo que este estuário é o local menos contaminado. As concentrações médias com seus respectivos desvios-padrão foram $186,9 \pm 115,5 \mu\text{g L}^{-1}$, $129,7 \pm 85,29 \mu\text{g L}^{-1}$ e $112,8 \pm 51,46 \mu\text{g L}^{-1}$ para os manguezais do Pontal de Ilhetas, Mamucabas e da Pedra, respectivamente (Figura 10).

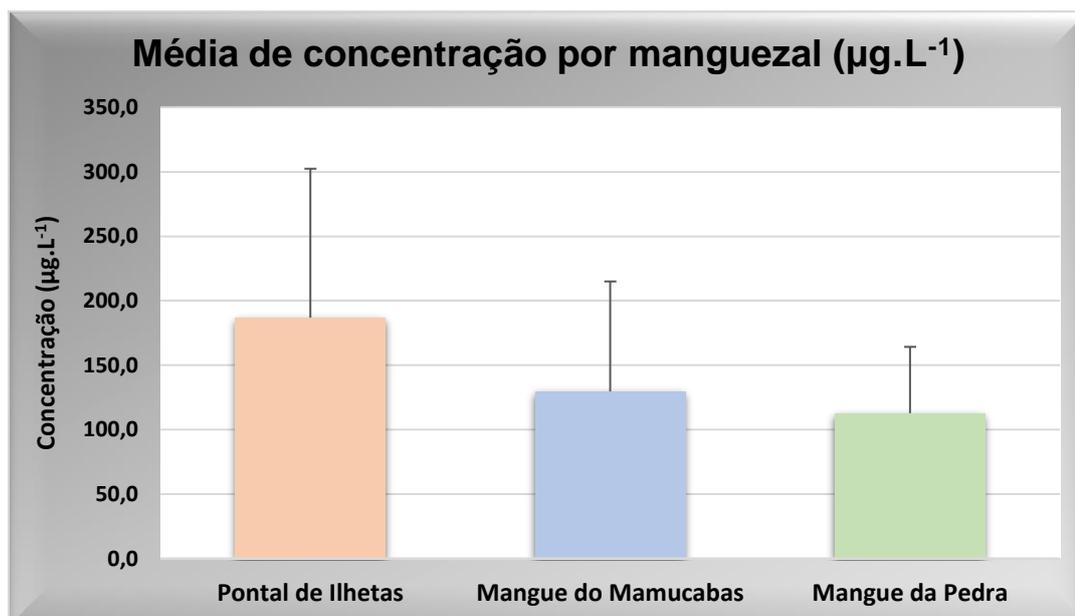


Figura 10 - Média e desvios-padrão das concentrações de metabólitos de HPA em amostras de urina de cada manguezal.

Fonte: o autor (2024).

As maiores concentrações foram observadas no manguezal do Pontal de Ilhetas, ao contrário do esperado, uma vez que este local foi escolhido, inicialmente, como ponto de referência/controlado. O mangue da praia da Pedra e o complexo Ilhetas-Mamucabas encontram-se em posições geográficas relativamente distantes, localizados ao norte e ao sul do município de Tamandaré, respectivamente. Pressupõe-se, dentre os manguezais estudados, que o mangue da Pedra seria o mais susceptível a contaminação por HPA por estar localizado num estuário de maior porte, o SERF, que apresenta um elevado tráfego de embarcações de pesca, intensificado pela atividade turística.

Estudos realizados na região de Tamandaré após o derrame de óleo de 2019 registraram a presença de hidrocarbonetos de petróleo dissolvidos e/ou dispersos (HPDD) nas águas do estuário do Rio Formoso. Os estudos foram conduzidos entre 2020 e 2021 e as concentrações foram relativamente baixas, mas ainda acima da linha de base para águas costeiras do Atlântico Tropical não poluídas (Zanardi-Lamardo; Schettini, 2022). Os autores concluíram que a presença destes compostos não é exclusivamente atribuída ao derrame, mas também devido à forte atividade náutica, turismo local e a atividade pesqueira (Vitório *et al.*, 2022). Entretanto, as menores concentrações de metabólitos de HPA detectadas na urina dos caranguejos do mangue

da Praia da Pedra sugerem uma condição de menor exposição dos organismos aos HPAs, em relação aos manguezais estudados no litoral sul do município.

Este resultado pode ser decorrente da ação da hidrodinâmica local. As áreas da Praia da Pedra e seu manguezal adjacente são classificadas como parte do setor médio do estuário do Rio Formoso, caracterizado pela dominância de sedimentos mal selecionados, compostos majoritariamente por uma mistura de areia lamosa e lama arenosa (Pereira da Silva *et al.*, 2008). A hidrodinâmica deste setor foi definida como alta quando comparada ao setor superior, devido ao aumento na profundidade, tendendo a acelerar ainda mais ao longo do curso do rio. Apesar do ambiente manguezal ser naturalmente uma região mais protegida, as características sedimentológicas e principalmente hidrodinâmicas deste manguezal, quando comparadas aos outros dois estudados, o tornam menos favorável a reter contaminantes orgânicos. Portanto, elas podem ser apontadas como fatores atuantes na sua dispersão, refletindo nas menores concentrações de metabólitos de HPA encontrados no mangue da Pedra.

Em contrapartida, a influência marinha na foz compartilhada dos rios Ilhetas/Mamucabas é pequena, sendo a hidrodinâmica predominantemente dominada pela ação dos rios (da Câmara *et al.*, 2023; Lira *et al.*, 1978). Esta dinâmica ocorre pois o curso de ambos os rios corre paralelamente à linha de costa, e sua foz apresenta uma proteção natural das correntes de maré, devido à presença de um estreito cordão arenoso (CPRH, 2001). Tais características, possivelmente, diminuem a probabilidade da contaminação por HPA por fontes externas ao estuário, além de atenuar a ação de diluição e/ou dispersão desempenhadas pela ação das águas marinhas. Desta forma, as concentrações de metabólitos encontradas nos caranguejos dos dois manguezais seriam resultado de contribuições predominantemente continentais, chegando ao estuário por transporte fluvial e/ou atmosférico, lixiviação ou lançamento direto de efluentes nos corpos d'água.

Apesar da proteção natural deste complexo estuarino, a chegada da mancha de óleo proveniente do incidente de 2019 na área do Mamucabas foi registrada (IBAMA, 2019), e é uma provável fonte de contaminação por óleo neste manguezal. A presença destes fragmentos no estuário do Mamucabas foi observada entre o período de outubro de 2019 a novembro de 2021 (Soares, 2023). Devido à baixa hidrodinâmica, morfologia e a presença do cordão arenoso, é plausível assumir que, uma vez dentro do complexo estuarino, a dispersão desse óleo pelas águas oceânicas foi dificultada, ocasionando o

aprisionamento dos fragmentos dentro do estuário e dos manguezais. Embora os fragmentos de óleo tenham sido registrados unicamente no Mamucabas, é provável que estas características também intensificaram / promoveram um intercâmbio de contaminantes entre os dois manguezais locais. Por compartilharem o mesmo local de desague no Atlântico, a troca de materiais entre os rios, incluindo os contaminantes, é favorecida.

Ao longo do período de retenção dos fragmentos de óleo no manguezal, estes são expostos às ações de intemperismo decorrentes de processos físicos, químicos e biológicos (Soares, 2023). Tais processos podem interferir e influenciar na sua biodisponibilidade a diferentes estratos da biota local. Durante as coletas do Pontal do Ilhetas, foi observada sobre a lama do manguezal a presença de uma mancha líquida multicolorida, de aspecto viscoso, semelhante à mistura de água e óleo. A mancha em questão encontrava-se a alguns metros de distância das locas dos caranguejos coletados, sugerindo a presença iminente de óleo no local, podendo esta estar relacionada, e justificar, as maiores concentrações de metabólitos de HPA nestes indivíduos. Infelizmente, a subida iminente da maré impossibilitou investigações mais extensas, como fotografar ou coletar uma amostra da mancha em questão. Não é possível afirmar que manchas como esta sejam recorrentes, mas sua presença sugere a contaminação por esgotos ou ressuspensão de alguma bolota de óleo presa sob o sedimento e/ou raiz do mangue. Dessa forma, é possível haver uma exposição frequente dos caranguejos da região à contaminação por óleo, o que resultaria no acúmulo de seus metabólitos na urina.

Os manguezais estudados encontram-se expostos a diferentes fontes de contaminação crônicas e/ou agudas, incluindo resquícios do incidente de 2019. A aplicação do teste estatístico não paramétrico de Kruskal-Wallis, para os conjuntos de dados que não seguem a distribuição normal, evidenciou que os dados dos três manguezais não apresentam diferença significativa entre si ($p = 0,16$). Este resultado demonstra que, apesar de apresentarem diferentes fontes e processos de contaminação, baseado nas amostras analisadas neste estudo, os três manguezais se encontram em situação relativamente semelhante.

Considerando as diferentes dinâmicas dos locais, investigar o gradiente de contaminação entre os manguezais de maneira minuciosa é enriquecedor, sendo interessante observar o comportamento de outros parâmetros estatísticos de distribuição

e tendência. Dentro desta perspectiva, as concentrações foram plotadas no formato de gráfico de caixa, apresentando como medida central, o valor da mediana (Figura 11), o que permite uma melhor visualização e compreensão da distribuição das concentrações encontradas.

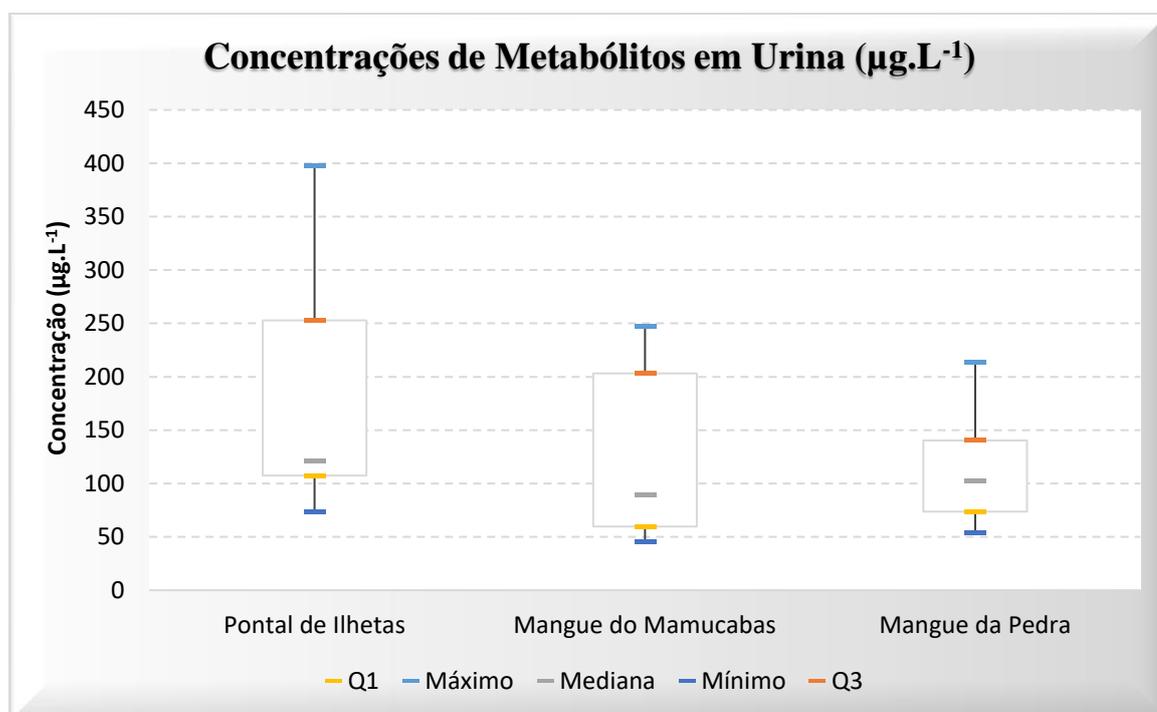


Figura 11: Distribuição em relação às medianas, das concentrações de metabólitos de HPA em urina de caranguejos coletados nos três manguezais. Máximo = limite superior, Q3 = terceiro quartil, Q1 = primeiro quartil, Mínimo = limite inferior.

Fonte: o autor (2024).

Os valores de mediana observados nas amostras dos três manguezais foram respectivamente, 120,6, 89,60 e 102,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o Ilhetas, Mamucabas e Praia da Pedra. Os organismos coletados no Pontal de Ilhetas apresentaram as maiores concentrações dentre os três manguezais (Figura 13), e o maior delta / amplitude de valores. Este resultado sugere e requer que o manguezal do Pontal de Ilhetas receba uma atenção especial pois, embora estatisticamente não difira significativamente dos demais, apresentou indivíduos com concentrações visualmente mais elevadas. Além deste apresentar a maior média de concentração, pode-se observar na distribuição de suas concentrações representadas no gráfico, que mais de 75% de seus caranguejos apresentaram valores acima das medianas dos organismos dos outros dois manguezais.

A distribuição das concentrações no mangue do Mamucabas também se mostrou mais ampla, de maneira similar ao observado em Ilhetas, como evidenciado pelo percentual de dispersão de seus dados, com 62 e 66% no Ilhetas e Mamucabas, respectivamente. As médias e medianas dos manguezais de Mamucabas e da Praia da Pedra foram relativamente aproximadas, onde a média de concentração do Mamucabas é maior, mas a mediana da área da Pedra foi superior. Isto sugere que o mangue da Pedra está sujeito a um processo de contaminação mais homogêneo, enquanto o Mamucabas, que apresentou alguns indivíduos com concentrações mais elevadas, apresenta uma distribuição mais dispersa dessa contaminação. Essa configuração pode estar refletindo um processo de contaminação crônico e mais estável do mangue da Praia da Pedra. O percentual de dispersão menor (46%) e a distribuição mais centrada das concentrações de metabólitos dos caranguejos do manguezal da Praia da Pedra podem ser decorrentes das já conhecidas fontes de contaminação presentes no Rio Formoso, que têm sua ação regulada principalmente pela ação hidrodinâmica mais intensa do local.

As maiores amplitudes de concentrações com medianas mais próximas dos limites inferiores observadas no Mamucabas e no Ilhetas, por sua vez, podem estar refletindo a introdução de uma ou mais fontes de contaminação agudas, localizadas e mais intensas. Nesse contexto, pode-se considerar como prováveis fontes os fragmentos de óleo do incidente de 2019 e a mancha suspeita observada no manguezal de Ilhetas. Estas fontes, associadas a hidrodinâmica suavizada da área da Boca da Barra e o intercâmbio de contaminantes entre os mangues do Ilhetas e Mamucabas, podem estar retendo os contaminantes e aumentando a exposição dos caranguejos do estuário à contaminação por óleo e seus derivados. A representação das concentrações na forma de gráfico de colunas auxilia a identificação de alguns caranguejos mais contaminados presentes nestes dois manguezais, contrastando com uma distribuição mais equilibrada dos caranguejos do mangue da Praia da Pedra (Figura 12).

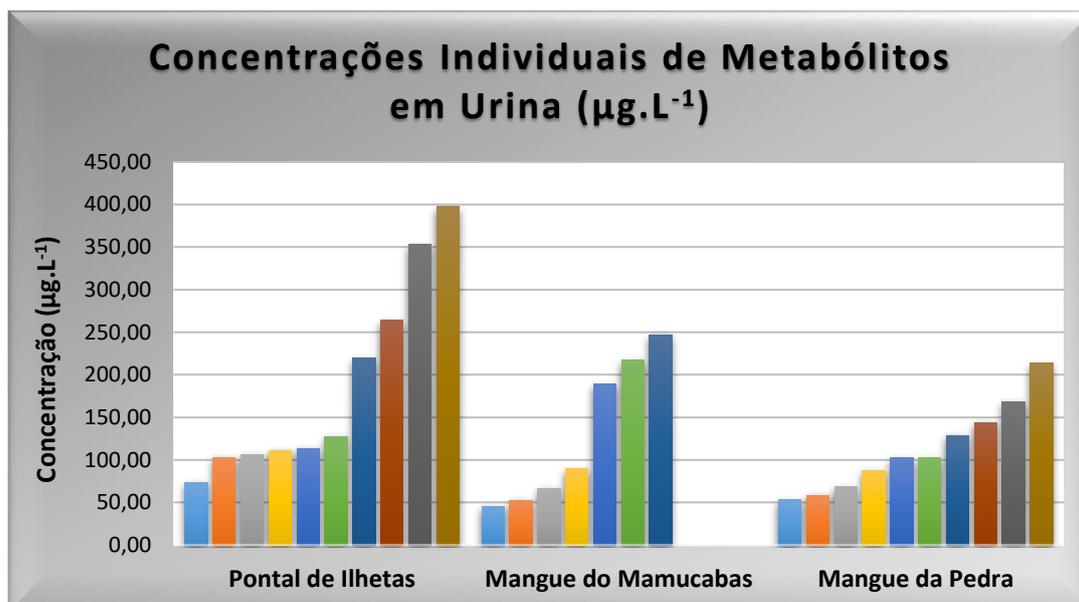


Figura 12: Concentrações individuais de metabólitos de HPA na urina dos caranguejos, de cada manguezal.

Fonte: o autor (2024).

Recentemente, sedimentos dos manguezais da Pedra, Ilhetas e Mamucabas foram investigados e apresentaram contaminantes específicos e indicadores de contaminação por esgoto doméstico (da Silva *et al.*, resultados ainda não publicados). Sua presença condiz com os registros de pontos de despejo de efluentes domésticos publicados em alguns manguezais da área de Tamandaré (de Souza, 2019). Estas informações corroboram a hipótese de que a presença dos metabólitos de HPA nos caranguejos podem ser decorrentes também da contaminação por efluentes domésticos, uma vez que estes também configuram uma rota de entrada de HPA no ambiente aquático (Bícego *et al.*, 2009).

A presença de fontes de contaminação por óleo em ambientes de preservação ambiental, como o caso da região de Tamandaré que abriga a APA Costa dos Corais e APA de Guadalupe, além do Parque Marinho do Forte de Tamandaré, é muito sério e deve ser investigado com mais detalhes. Os componentes do óleo podem ser incorporados até mesmo por organismos da base da cadeia alimentar, como registrado em Tamandaré, logo após o derrame de 2019, onde fragmentos de óleo foram ingeridos pelo microzooplâncton da região (de Santana Campelo *et al.*, 2021). Esta contaminação pode causar vulnerabilidade e afetar o recrutamento de espécies bentônicas como os crustáceos, pois alguns destes apresentam estágios larvais em seu desenvolvimento.

Tais observações reforçam que, além das demais possíveis fontes de contaminação, o derrame de 2019 foi relevante para a contaminação extensa da biota

dos manguezais locais. A falta de informações documentadas sobre a contaminação ao longo dos rios Ilhetas e Mamucabas limita o entendimento e discussão sobre os resultados encontrados, e suscita mais perguntas sobre a real origem destes metabólitos na urina dos caranguejos, reforçando a necessidade de se investigar mais profundamente estes manguezais. A existência de diferentes fontes de contaminação demanda mais atenção por parte dos governantes e/ou órgãos reguladores, em especial a área da Boca da Barra onde se encontram os manguezais de Ilhetas e Mamucabas.

Outro aspecto interessante observado durante as coletas foi a dificuldade de se obter o mesmo número de organismos nos três manguezais. O tempo de coleta exato não foi cronometrado, pois este não era um dos objetivos do estudo, mas é estimado que se dispendeu cerca de 25 minutos para a coleta no mangue da Pedra, em torno de 40 minutos no Mamucabas, e mais de 1 hora em Ilhetas. Baseado nestas informações, observou-se uma possível correlação entre a presença/facilidade de captura dos caranguejos e as concentrações de metabólitos equivalentes de 1-OH-pireno encontrados nos organismos dos três manguezais. A tendência de um gradiente crescente de contaminação do mangue da Pedra, Mamucabas e Ilhetas foi diretamente proporcional à dificuldade de encontrar os caranguejos nos locais de coleta.

Esta dificuldade crescente atíça a curiosidade científica sobre a influência desta contaminação no comportamento e/ou alterações genéticas dos caranguejos. Recentemente, foi reportado um decréscimo no número de fêmeas da espécie *Pachygrapsus transversus* capturadas no nordeste de Pernambuco, em áreas da costa afetadas pelo derrame de óleo de 2019 (Santana *et al.*, 2022). Os autores atribuíram esta diferença ao provável fechamento de locais anteriormente utilizadas como esconderijo pela espécie. Entretanto, não foi investigado o nível de contaminação nestas espécies para inferir algum efeito químico sobre o comportamento das fêmeas. O fato dessa predominância de machos também ter sido observada neste estudo com o Uçá, cria mais expectativas do entendimento da extensão dos efeitos do derrame de 2019 e como poderia ter afetado os caranguejos da região.

Buscando um ponto de vista da situação dos caranguejos de Tamandaré num panorama mais geral, é proveitoso avaliar as informações referentes à concentração de metabólitos em urina de caranguejo em outros pontos do globo. A análise de metabólitos de HPA expressos em equivalentes de 1-OH pireno na urina de caranguejos coletados na região do Porto de Otago (altamente poluído), na Nova Zelândia, permitiu classificar

as regiões investigadas quanto ao gradiente de contaminação (Koenig *et al.*, 2008). As áreas mais contaminadas do porto registraram concentrações entre 18,6 e 156,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Novamente, as concentrações registradas nas amostras dos caranguejos dos manguezais de Tamandaré se mostraram majoritariamente superiores às observadas na Nova Zelândia.

Na Baía de Guanabara (RJ), foram investigados cinco manguezais, num período de amostragem superior a um ano. O estudo encontrou concentrações de metabólitos de HPA em urina de caranguejo variando de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ na área menos impactada, à 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ nas regiões mais propícias à contaminação por óleo (Nudi, *et al* 2010). A área estuarina da Baía de Guanabara é considerada impactada por pressão urbana, atividades industriais e sob influência de instalações de áreas offshore de produção de petróleo, com histórico de contaminação por óleo. Apesar de tal histórico, as concentrações registradas nos manguezais de Tamandaré foram significativamente mais altas que os máximos encontrados na Baía de Guanabara, somando mais um alerta às condições dos caranguejos pernambucanos. Entretanto, o fato de até o momento existirem poucos estudos aplicando esta metodologia, ainda restringe a possibilidade de contrapor a contaminação observada nestes caranguejos com os de outros locais, utilizando a análise de urina como parâmetro.

5. CONCLUSÕES

Os três manguezais estudados encontram-se contaminados por óleo e / ou derivados, evidenciado através da presença de metabólitos de HPA equivalentes a 1-OH-pireno na urina de caranguejos da espécie *Ucides cordatus*.

O manguezal do Pontal de Ilhetas apresentou uma tendência de concentrações maiores, seguido pelo manguezal do rio Mamucabas e o da Praia da Pedra.

Resquícios de óleo provenientes do acidente de 2019 podem ser os principais responsáveis pela contaminação dos caranguejos, mas as atividades náuticas, turísticas e a má gestão dos esgotos domésticos também podem estar contribuindo para essa contaminação.

A hidrodinâmica é um dos fatores determinantes na regulação da presença destes contaminantes dentro das áreas de estuário e manguezal.

O incentivo e disseminação do uso da técnica de análise de metabólitos de HPA em urina de caranguejos são vantajosos. Sua difusão de forma ainda mais organizada e padronizada, contribuirá para o estabelecimento de uma ferramenta de estudos de contaminação ambiental simples, eficaz e de ótimo custo-benefício.

6. CONSIDERAÇÕES FUTURAS

O derrame do óleo de 2019 motivou o desenvolvimento de múltiplos estudos. Em especial, o litoral do município de Tamandaré tem sido minuciosamente investigado, devido sua relevância ecológica e econômica. Infelizmente estes estudos têm revelado as mais diversas consequências deste evento, tornando o levantamento de dados cada vez mais necessário. A compilação dos resultados encontrados neste estudo e nos outros citados e referenciados aqui, servirão como ferramentas para entender os impactos deste derrame, auxiliando na tomada de decisões para medidas de proteção e/ou recuperação desse importante ecossistema.

Este estudo investigou as concentrações do metabólito de HPA 1-OH-pireno na urina de caranguejos, que é um importante biomarcador da contaminação por óleo dos organismos e, conseqüentemente, de seu habitat. Esta é uma ferramenta bastante conveniente, de ótimo custo-benefício e que atende o objetivo proposto, além de ser mais rápida e mais ecológica (não destrutiva). Suas vantagens se destacam quando comparada a outras medidas internas como a análise do hepatopâncreas e a hemolinfa, que são mais custosas e complexas e/ou análises de HPA em sedimentos que, embora mais complexa e detalhada, é extremamente mais custosa e demorada (Koenig *et al.*, 2008; Nudi *et al.*, 2010). Tal constatação é corroborada pelo número crescente de estudos que vêm sendo desenvolvidos ao longo das últimas décadas e que utilizam este método, incluindo a iniciativa do laboratório OrganoMAR em implementar esta metodologia em seu repertório de capacidade analítica.

Entretanto, por essa aplicabilidade ser tão específica, não existem limites legais da concentração desse composto na urina de caranguejos em normativas ou resoluções tais como preconizadas pelo CONAMA ou equivalentes.

Os estudos desenvolvidos até o presente momento são focados principalmente em ensaios investigando a relação de exposição destes caranguejos aos contaminantes

e as respostas analíticas obtidas (Barbosa, 2005; Dissanayake *et al.*, 2004, 2008, 2011; Fillmann *et al.*, 2002, 2004; Galloway *et al.*, 2004; Koenig *et al.*, 2008, 2009; Nudi *et al.*, 2010; van Oosterom *et al.*, 2010; Scarlett *et al.*, 2009; Watson *et al.*, 2004). Abordagens como a do presente estudo, investigando a presença do 1-OH-pireno na urina de *U. cordatus* como biomarcador de **contaminação ambiental** por HPA em estuários tropicais, ainda são escassas, mas estão ganhando destaque conforme a técnica ganha popularidade.

Numa área de alto valor ecológico e socioeconômico, como é o litoral do município de Tamandaré, os resultados obtidos neste trabalho abrem margem para a realização de uma gama de outras investigações utilizando o *U. cordatus* como organismo sentinela, associados a outras variáveis. A conclusão deste trabalho suscita questionamentos para futuras pesquisas tais como estudos comportamentais e de mortalidade dos caranguejos, relacionados às concentrações de metabólitos de 1-OH-pireno; análises de HPA na água e principalmente sedimento nestes três manguezais, para observar se os locais mais contaminados se mantêm os mesmos; investigar a contaminação em outras matrizes biológicas, como a hemolinfa e o hepatopâncreas dos caranguejos; investigar possíveis alterações na dinâmica populacional; e por último, mas não menos importante, a avaliação do risco do consumo desta espécie para a população, em especial os pescadores e coletores locais, que seriam os mais vulneráveis no caso da existência de um risco real de contaminação. Algumas destas análises estão atualmente sendo desenvolvidas pela equipe do OrganoMAR e, em breve, possibilita uma avaliação mais holística da saúde destes três manguezais em relação a contaminação por HPA, e dos indivíduos da espécie *Ucides cordatus*.

7. FINANCIAMENTO

Este estudo foi financiado pelos projetos **“PELD Tamandaré - Dinâmica espacial e temporal da paisagem marinha: conectividade, resiliência e uso sustentável no sul de Pernambuco”** (CNPq: 442139/2020-9) e **“O papel da matéria orgânica na biodisponibilidade de contaminantes orgânicos na coluna d’água e avaliação do risco ecológico em estuários com diferentes perfis de uso”** (CNPq: 409498/2021-1).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, A., FLUES, M. Determinação do Coeficiente de Distribuição (KD) de Benzo(a)pireno em solo por Isotermas de Sorção. **Química Nova**. VOL. 29, Nº 4, 657-661P, 2006.

ALVES, J. R. P. **Manguezais: Educar para Proteger**. Fundação de Estudos do Mar - FEMAR / Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável - SEMADS, 2001.

ALVES, M. K. D. M. **Biomonitoramento da poluição em recifes de coral utilizando o peixe donzelinha *Stegastes fuscus* como organismo sentinela**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2020.

AMOUROUX, J.M.; TAVARES, M. NATURAL RECOVERY OF AMAZONIAN MANGROVE FOREST AS REVEALED BY BRACHYURAN CRAB FAUNA: PRELIMINARY DESCRIPTION. **Vie et Milieu - Life and Environment**. V.55, N 2, P. 71-79, 2005.

APAc. **Boletins meteorológicos 2023**. Disponível em: <https://www.apac.pe.gov.br/boletins>. Acesso em: novembro de 2023.

ARAÚJO, L. S. **Origens, fontes, distribuição espaço-temporal em sedimentos e bioacumulação de hpas em *ucides cordatus* nos estuários dos rios São Paulo e Jaguaripe, Baía de Todos os Santos**. Bahia (dissertação de mestrado), 2016.

ARAÚJO, M.S.L.C.; COELHO, P.A.; CASTIGLIONI, D.S. Relative Growth and Determination of Morphological Sexual Maturity of the Fiddler Crab *Uca thayeri rathbun* (crustacea, ocyrodidae) in two Mangrove Areas from Brazilian Tropical Coast. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, 7.3: 156-170, 2012.

ARAÚJO, M.S.L.C.; TENÓRIO, D.D.O.; CASTIGLIONI, D.D.S. Diversidade e Distribuição dos Crustacea Brachyura dos Manguezais dos rios Ariquindá e Mamucabas, Litoral Sul de Pernambuco, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada** 14.3: 483-499, 2014.

AZEVEDO, R. N., BEZERRA, K. M., NASCIMENTO, R. F., NELSON, R. K., REDDY, C. M., NASCIMENTO, A. P., ... & CAVALCANTE, R. M. Is there a similarity between the 2019 and 2022 oil spills that occurred on the coast of Ceará (Northeast Brazil)? An analysis based on forensic environmental geochemistry. **Environmental Pollution**, 314, 120283, 2022.

BAMBER, S.D.; NAYLOR, E. Sites of Release of Putative Sex Pheromone and Sexual Behaviour in Female *Carcinus Maenas* (crustacea: decapoda). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, V. 44, N. 2: 195-202, 1997.

BARBOSA, L.H.C. **Uso da espécie *Callinectes sapidus* na Avaliação da Contaminação da Fração Biodisponível de Hidrocarbonetos Poliaromáticos (HPA)**. Dissertação de mestrado, 2005.

Barreto, L., Barros, F., Bonomo, P., Rocha, F., & Amorim, J. Eutrofização em rios brasileiros. **Enciclopédia biosfera**, v. 9, n. 16, 2013.

BARROSO, H.S. **Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em Organismos Marinhos da Baía do Almirantado, Península Antártica**. Doutorado em Ocenografia Química e Geológica (Tese). Universidade de São Paulo – USP, 2010.

BÉRGAMO; DB; CRAVEIRO, N; MAGALHÃES, KM; YOGUI, GT; SOARES, MO; ZANARDI-LAMARDO, E; ROJAS, LAV; LIMA, MCS; ROSA FILHO, JS. Tar balls as a floating substrate for long-distance species dispersal. **Mar. Pollut. Bull.** 196, 115654. doi: 10.1016/j.marpolbul.2023.115654, 2023.

BÍCEGO, M., ZANARDI-LAMARDO, E., TANIGUCHI, S., MARTINS, C., SILVA, D., SASAKI, S., ALBERGARIA-BARBOSA, A., PAOLO, F., WEBER, R., MONTONE, R. Results from a 15-year study on Hydrocarbon Concentrations in Water and Sediment from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. **Antarctic Science**, V.21, 209-220, 2009.

BOTELHO, E. R. O.; DIAS, A. F.; IVO, C. T. C. Estudo sobre a biologia do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus cordatus* (Linnaeus, 1763), capturado nos estuários dos rios Formoso (Rio Formoso) e Ilhetas (Tamandaré), no Estado de Pernambuco. **Boletim Técnico-Científico do CEPENE**, v. 7, n. 1, p. 117-145, 1999.

BRITO-LOLAIA, M., SANTOS, G. S., NEUMANN-LEITÃO, S., & SCHWAMBORN, R. (2020). Micro-and mesozooplankton at the edges of coastal tropical reefs (Tamandaré, Brazil). **Helgoland Marine Research**, v. 74, p. 1-14, 2020.

CABRAL, C. B. **Avaliação de danos genômicos em Caranguejo-Uçá (*Ucides cordatus*) expostos a sedimentos contaminados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no Estuário do Rio Potengi (Natal/RN)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

CÂMARA, S. F., PINTO, F. R., da SILVA, F. R., De OLIVEIRA SOARES, M., & De PAULA, T. M. Socioeconomic vulnerability of communities on the Brazilian coast to the largest oil spill (2019–2020) in tropical oceans. **Ocean & Coastal Management**, v. 202, p. 105506, 2021.

CAMERON, W. M. & PRITCHARD, D W. Estuaries. in: Hill, m.n. (ed.). *The Sea: Ideas and Observations on Progress in the Study of the Seas*. New York, **Wiley-Interscience**, pp. 306-324, 1963.

CARUSO, M. S. F., & ALABURDA, J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos-benzo (a) pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 1, p. 1-27, 2008.

CHEN, Y., LAI, B., WEI, Y., MA, Q., LIANG, H., YANG, H., ... & TANG, H. Polluting characteristics, sources, cancer risk, and cellular toxicity of PAHs bound in atmospheric particulates sampled from an economic transformation demonstration area of Dongguan in the Pearl River Delta, China. **Environmental Research**, 215, 114383, 2022.

COTOVICZ JR, L. C. Concentrações e trocas atmosféricas de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) em um estuário tropical eutrofizado (Baía de Guanabara, RJ, Brasil).[s.l] Universidade Federal Fluminense. **L'Université de Bordeaux**, 2016.

CPRH. Companhia Pernambucana do Meio Ambiente, Recife, PE, Brasil. **Diagnóstico Sócio - Ambiental - Litoral Sul de Pernambuco**. 89P, 1999.

CPRH. Companhia Pernambucana do Meio Ambiente, Recife, PE, Brasi. **Zoneamento da APA de Guadalupe**, 2011. Disponível em: http://www.cprh.pe.gov.br/arquivos_anexo/relatorio%20zoneamento%20final.pdf. Acesso em: novembro 2023.

CPRH. Educando entre Águas. **O Convívio entre Vida Natural e Humana na Área de Proteção Ambiental (APA) de Guadalupe**, 2018. Recife, PE, Brasil. Disponível em: https://www2.cprh.pe.gov.br/wp-content/uploads/2021/01/educando_entre_aguas.pdf. Acesso em: setembro 2023.

CPRH. Diagnóstico sócio-ambiental do litoral norte de pernambuco. 211p, 2001. Disponível em: http://www.cprh.pe.gov.br/central_servicos/centro_documentacao_informacao_ambiental/central_downloads/39749;34001;020709;0;0.asp. Acesso em: 12 de jun de 2023.

CRAVEIRO, N. **Hidrocarbonetos no sedimento superficial do sistema estuarino do Rio Formoso, nordeste do Brasil**. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

CRAVEIRO, N., DE ALMEIDA ALVES, R. V., da SILVA, J. M., VASCONCELOS, E., DE ALMEIDA ALVES-JUNIOR, F., & ROSA FILHO, J. S. Immediate effects of the 2019 oil spill on the macrobenthic fauna associated with macroalgae on the tropical coast of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 165, p. 112107, 2021.

da CÂMARA, I.; DE HOLANDA, T. F.; COSTA, M. B. Erosão e gestão costeira em praias protegidas por recifes no litoral sul de Pernambuco. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 24, n. 1, 2023.

da SILVA JÚNIOR, J. F.; DE LIMA, T. H. A.; SANTANA, M. C. Desastre com Óleo Bruto de 2019 na Costa Brasileira: Efeito sobre as Angiospermas Marinhas. **Tropical Oceanography**, v. 49 n. 2, 2022.

da SILVA, R. B.; Dos SANTOS, G. A. P.; De FARIAS, A. L.; FRANÇA, D. A. A.; CAVALCANTE, R. A.; ZANARDI-LAMARDO, E.; de SOUZA, J. R. B.; ESTEVES, A. M.

2022. Effects of PAHs on meiofauna from three estuaries with different levels of urbanization in the South Atlantic. **PeerJ**, v. 10, p. e14407, 2022

de SANTANA CAMPELO, R. P., DE LIMA, C. D. M., de SANTANA, C. S., da SILVA, A. J., NEUMANN-LEITÃO, S., FERREIRA, B. P., ... & DE CASTRO MELO, P. A. M. Oil spills: The invisible impact on the base of tropical marine food webs. **Marine Pollution Bulletin**, v. 167, p. 112281, 2021.

de SOUZA, J. L. F. Relato de despejos de efluentes diretamente no mangue da cidade de Tamandaré – Pernambuco”. **II Congresso Sul-americano de Resíduos Sólidos e Sustentabilidade**. Foz do Iguaçu, PR, maio, 2019.

DISSANAYAKE, A., GALLOWAY, T, S., JONES, M, B. Nutritional status of *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda) influences susceptibility to contaminant exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 89, n. 1, p. 40-46, 2008.

DISSANAYAKE, A., GALLOWAY, T, S., JONES, M, B. Seasonal differences in the physiology of *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda) from estuaries with varying levels of anthropogenic contamination. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 93, n. 4, p. 320-327, 2011.

DISSANAYAKE, A., GALLOWAY, T, S. Evaluation of fixed wavelength fluorescence and synchronous fluorescence spectrophotometry as a biomonitoring tool of environmental contamination. **Marine environmental research**, v. 58, n. 2-5, p. 281-285, 2004.

DISSANAYAKE, A; GALLOWAY, T, S.; JONES, MALCOLM B. Physiological responses of juvenile and adult shore crabs *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda) to pyrene exposure. **Marine Environmental Research**, v. 66, n. 4, p. 445-450, 2008.

DUARTE, A. A., & VIEIRA, J. M. **Influência das características das descargas no processo de eutrofização de sistemas estuarinos**. 2004.

ESCOBAR, H. Mysterious oil spill threatens marine biodiversity haven in Brazil. **Science**, v. 366, n. 6466, p. 672, 2019.

EUROPEAN COMMISSION. Health and Consumer Protection Directorate-General. **Polycyclic aromatic hydrocarbons –Occurrence in foods, dietary exposure and health effects**. SCF/CS/CNTM/PAH/29 ADD1 Final. Brussels, 2002.

EWA, B., DANUTA, MŠ. Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. **Journal of applied genetics**, v. 58, p. 321-330, 2017.

FERREIRA, B. P., MAIDA, M., CAVA, F., & MESSIAS, L. Interações entre a pesca artesanal e o turismo em Tamandaré, APA Costa dos Corais. In: **Congresso sobre Planejamento e Gestão das Zonas Costeiras dos países de expressão portuguesa**. 2003. p. 12-19.

FILLMANN, G, WATSON, G, M., FRANCONI, E., READMAN, J, W DEPLEDGE, M, H. A non-destructive assessment of the exposure of crabs to PAH using ELISA analyses of their urine and haemolymph. **Marine environmental research**, v. 54, n. 3-5, p. 823-828, 2002.

FILLMANN, G, WATSON, G, M., HOWSAM, M., FRANCONI, E., DEPLEDGE, M, H., READMAN, J, W. Urinary PAH metabolites as biomarkers of exposure in aquatic environments. **Environmental science & technology**, v. 38, n. 9, p. 2649-2656, 2004.

FOLHA DE PERNAMBUCO: Disponível em: <https://www.folhape.com.br/noticias/conselho-denuncia-contaminacao-de-praia-em-tamandare/54713/>. Acessado em novembro, 2023.

FUCIK, K. W.; NEFF, J. M. Effects of Temperature and Salinity of Naphthalenes Uptake in the Temperature clam, *Rangia cuneata* and the Boreal clam, *Protothaca staminea*. In: **Fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms**. Pergamon, 1977. p. 305-312.

GALLOWAY, T, S.; BROWN, R, J; BROWNE, M, A; DISSANAYAKE, A; LOWE, D; JONES, M, B; DEPLEDGE, M, H. A multibiomarker approach to environmental assessment. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 6, p. 1723-1731, 2004.

GUARIM, V. L. Sustentabilidade ambiental em comunidades ribeirinhas tradicionais. **III Simpósio Sobre Recursos Naturais e Sócio-Econômicos do Pantanal**, 2000.

GUO, L., LIU, Z., LI, P., JI, Y., SONG, S., ZHENG, N., ... & BYUN, H. M. Association between mitochondrial DNA methylation and internal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitrated-PAHs (NPAHs) and oxygenated-PAHs (OPAHs) in young adults from Tianjin, China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 241, p. 113799, 2022.

HALLETT, C. S., VALESINI, F., & ELLIOTT, M. (2016). A review of Australian approaches for monitoring, assessing and reporting estuarine condition: I. International context and evaluation criteria. **Environmental Science & Policy**, v. 66, p. 260-269, 2016.

IBAMA. **Unidades de conservação do Brasil: parques nacionais e reservas biológicas**. 1989.

IBAMA. **Mapa de Localidades Afetadas: Vitoria em áreas com localidades oleadas no Litoral brasileiro**, 24 nov, 2019. Disponível em: https://www.ibama.gov.br/phocadownload/emergenciasambientais/2019/manchasdeoleo/2019-11-24_LOCALIDADES_AFETADAS.pdf. Acessado em: setembro 2023.

IBGE. **Panorama do Município de Tamandaré**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/tamandare/panorama>. Acessado em novembro de 2023.

ICMBIO. Atlas dos Manguezais do Brasil, 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/noticias/ultimas-noticias/icmbio-lanca-atlas-dos-manguezais-do-brasil>. Acessado em: agosto 2023.

JESUS, F., PEREIRA, J. L., CAMPOS, I., SANTOS, M., RÉ, A., KEIZER, J., NOGUEIRA, A., GONÇALVES, F.J.M., ABRANTES, N., SERPA, D. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons distribution in freshwater ecosystems and their toxicity to benthic fauna. **Science of The Total Environment**, v. 820, p. 153282, 2022.

JIANG, G., SONG, X., XIE, J., SHI, T., & YANG, Q. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in ambient air of Guangzhou city: Exposure levels, health effects and cytotoxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 262, 115308, 2023.

KATSOU, E; MALAMIS, S; MAMAI, D; BOLZONELLA, D; FATONE, F. Occurrence, Fate, and Removal of PAHs and VOCs in WWTPs Using Activated Sludge Processes and Membrane Bioreactors: Results from Italy and Greece. In: **Wastewater Treatment**. CRC Press, 2018. p. 128-155.

KENNISH, M. J. **Ecology of estuaries: anthropogenic effects**. CRC press, 2019.

KOENIG, S., SAVAGE, C., KIM, J.P. Non-destructive assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure by fluorimetric analysis of crab urine. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 12, p. 2003-2008, 2008.

KOENIG, S., SAVAGE, C., KIM, J.P. Two novel non-destructive biomarkers to assess PAH-induced oxidative stress and porphyrinogenic effects in crabs. **Biomarkers**, v. 14, n. 7, p. 452-464, 2009.

LACERDA, D. C. D. S. **Ecologia e pesca dos mugilídeos no complexo costeiro de Tamandaré, Pernambuco**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2020.

LEGAT, J. F. A.; LEGAT, A. P. Metodologia para o transporte de caranguejo vivo com baixos índices de desperdícios. **Boletim técnico-científico do CEPENE**, v. 17, p. 115-121, 2009.

LIMA, B. D., MARTINS, L. L., PEREIRA, V. B., FRANCO, D. M., DOS SANTOS, I. R., SANTOS, J. M., ... & DA CRUZ, G. F. Weathering impacts on petroleum biomarker, aromatic, and polar compounds in the spilled oil at the northeast coast of Brazil over time. **Marine Pollution Bulletin**, v. 189, p. 114744, 2023.

LIRA, L.; WOR, C.; HAZIN, F. H. V.; BRAGA JÚNIOR, H. A. D. C.; SANTOS, J. C. P. D. **Estudo de correntes marinhas por meio do lançamento de cartões de deriva no litoral do estado de Pernambuco, Brasil**, 2010.

LIRA, L., ZAPATA, M. C., FALCÃO, I. M. D. M., & OLIVEIRA, A. V. D. **Material em suspensão, temperatura e salinidade no estuário do Rio Mamucaba-PE**, 1978.

LITTLE, E. E., & FINGER, S. E. Swimming behavior as an indicator of sublethal toxicity in fish. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 9, n. 1, p. 13-19, 1990.

LÓPEZ-BERENGUER, G., ACOSTA-DACAL, A., LUZARDO, P. O., PEÑALVER, J., & MARTÍNEZ-LÓPEZ, E. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mediterranean top marine predators stranded in SE Spain. **Chemosphere**, p. 139306, 2023.

LOURENÇO, R.A. *ET AL.* 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.

MACIEL, D. C., COSTA, B. V. M., SOUZA SANTOS, L. P., SOUZA, J. R. B., & ZANARDI-LAMARDO, E. Avaliação da toxicidade dos sedimentos do sistema estuarino do Rio Capibaribe (Pernambuco, Brasil) utilizando o copépodo bentônico *Tisbe biminiensis* Volkmann Rocco (1973). **Tropical Oceanography**, 43(1), 26-37, 2015.

MACIEL, D. C., de SOUZA, J. R. B., TANIGUCHI, S., BÍCEGO, M. C., SCHETTINI, C. A. F., & ZANARDI-LAMARDO, E. Hydrocarbons in sediments along a tropical estuary-shelf transition area: sources and spatial distribution. **Marine Pollution Bulletin**, 113(1-2), 566-571, 2016.

MAGALHÃES, K. M., CARREIRA, R. S., FILHO, J. S. R., ROCHA, P. P., SANTANA, F. M., YOGUI, G. T. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fishery resources affected by the 2019 oil spill in Brazil: Short-term environmental health and seafood safety. **Marine Pollution Bulletin**, v. 175, p. 113334, 2022.

MAIDA, M. AND; FERREIRA, B. P. Coral reefs of Brazil: Overview and field guide. **Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium**. vol. 1. n. 1, p. 263–274, 1997.

MELLO, L. C., NASCIMENTO, A. P., LOPES, B. D., LIMA, A. D., BEZERRA, L. E., MENDES, L. D. F., ... & CAVALCANTE, R. M.. Tarballs on the Brazilian coast in late 2022 sustain *Lepas anatifera* Linnaeus, 1758 (Crustacea: Cirripedia): Occurrence and risk of petroleum hydrocarbon ingestion. **Science of The Total Environment**, p. 164981, 2023.

MMA. Especificações e Normas Técnicas para Elaboração de Cartas de Sensibilidade Ambiental para Derramamentos de Óleo. **Brasília: Ministério do Meio Ambiente**, 2006. 107 P.

MCGRATH, J. A., JOSHUA, N., BESS, A.S., PARKERTON, T.F. 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.

MCLUSKY, D.S.; ELLIOTT M. **The estuarine ecosystem: ecology, threats and management**. OUP Oxford, 2004.

MMA. Projeto TerraMar. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/gestao-territorial/projeto-terramar.html>. Acessado em: junho 2022.

MOURA, R. T.; PASSAVANTE, JZ de O. Biomassa fitoplanctônica na baía de Tamandaré, Rio Formoso-Pernambuco, Brasil. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 23, p. 1-15, 1995.

MUNIZ, V. M. **Avaliação de métodos de preparação de amostras utilizados em bioensaios**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal da Paraíba, 2016.

NEGRI, A., MORTIMER, M., CARTER, S., MULLER, J. Persistent organochlorines and metals in estuarine mud crabs of the Great Barrier Reef. **Marine Pollution Bulletin**, 58, 765–786, 2009.

NEYMAN, J. The problem of inductive inference. **Communications on pure and applied mathematics**, v. 8, n. 1, p. 13-45, 1955.

NORDHAUS, I.; DIELE, K.; WOLFF, M. 2009. Activity patterns, feeding and burrowing behaviour of the crab *Ucides cordatus* (Ucididae) in a high intertidal mangrove forest in North Brazil. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 374, n. 2, p. 104-112, 2009.

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

NUDI, A. H., DE LR WAGENER, A., FRANCIONI, E., SETTE, C. B., SARTORI, A. V., & SCOFIELD, A. D. L. Biomarkers of PAHs exposure in crabs *Ucides cordatus*: Laboratory assay and field study. **Environmental Research**, v. 110, n. 2, p. 137-145, 2010.

Nunes, B. Z., Soares, M. D. O., Zanardi-Lamardo, E., & Castro, Í. B. Marine protected areas affected by the most extensive oil spill on the southwestern Atlantic coast. **Ocean and Coastal Research**, v. 71, p. e23028, 2023.

PAYNE, J.F.; MATHIEU, A.; COLLIER, T.K. Ecotoxicological studies focusing on marine and freshwater fish. **PAHs: an ecotoxicological perspective**, p. 191-224, 2003.

PENA, P. G. L., NORTHCROSS, A. L., LIMA, M. A. G. D., & RÉGO, R. D. C. F. Derramamento de óleo bruto na costa brasileira em 2019: emergência em saúde pública em questão. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, p. e00231019, 2020.

PEREIRA NETTO, A. D., MOREIRA, J. C., DIAS, A. E. X., ARBILLA, G., FERREIRA, L. F. V., OLIVEIRA, A. S., & BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por

hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química nova**, v. 23, p. 765-773, 2000.

PEREIRA DA SILVA, J.; LÚCIA. M. M. V. Estudos sedimentológicos, hidrodinâmicos, batimétricos e da qualidade da água visando a evolução e os aspectos ambientais associados do Estuário do Rio Formoso-PE. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

PIERSON, D. C.; MARKENSTEN, H.; STRÖMBECK, N. Long and short term variations in suspended particulate material: the influence on light available to the phytoplankton community. In: **The Interactions between Sediments and Water: Proceedings of the 9th International Symposium on the Interactions between Sediments and Water**. Alberta, Canada. **Springer Netherlands**, p. 299-304, 2003.

PINHEIRO, M.A.A.; FISCARELLI, A.G. **Manual de apoio à Fiscalização do caranguejo-Uçá (*Ucides cordatus*)**. Itajaí, CEPESUL/IBAMA, 43P, 2001. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/trabalhos_tecnicos/pub_2001_manual_caranguejo_uca.pdf. Acessado em: setembro 2022.

QUEZADA-MALDONADO, E. M., SÁNCHEZ-PÉREZ, Y., CHIRINO, Y. I., GARCÍA-CUELLAR, C. M. Airborne particulate matter induces oxidative damage, DNA adduct formation and alterations in DNA repair pathways. **Environmental Pollution**, v. 287, p. 117313, 2021.

RAVINDRA, K.; SOKHI, R.; VANGRIEKEN, R. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. **Atmospheric environment**, v. 42, n. 13, p. 2895-2921, 2008.

ROCHA, M. D. S. P., MOURÃO, J. D. S., SOUTO, W. D. M. S., BARBOZA, R. R. D., & ALVES, R. R. D. N. O uso dos recursos pesqueiros no estuário do rio Mamanguape, estado da Paraíba, Brasil. **Interciencia**, v. 33, n. 12, p. 903-910, 2008.

SAMANTA, S. K.; SINGH, O. V.; JAIN, R. K. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. **TRENDS in Biotechnology**, v. 20, n. 6, p. 243-248, 2002.

SAMIULLAH, Y. Biological effects of marine oil pollution. **Oil and Petrochemical Pollution**, v. 2, n. 4, p. 235-264, 1985.

SAMPAIO, M. F. C. **Desenvolvimento e validação de método para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*)**. Dissertação (Pós-Graduação em Química) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2016.

SANTANA, J. L.; RIOS, A. S.; CALADO, T. C. S.; ZANARDI-LAMARDO, E.; SOUZA-FILHO, J. F. Reef crab population changes after oil spill disaster reach Brazilian tropical environments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 183, p. 114047, 2022.

SANTOS, F. R., MARTINS, D. A., MORAIS, P. C., OLIVEIRA, A. H., GAMA, A. F., NASCIMENTO, R. F., ... & CAVALCANTE, R. M. Influence of anthropogenic activities and risk assessment on protected mangrove forest using traditional and emerging molecular markers (Ceará coast, northeastern Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 656, p. 877-888, 2019.

SANTOS, M. M. F. D. **Impactos ambientais no estuário do Rio Formoso a partir da confluência dos Rios Ariquindá/Formoso, Tamandaré (PE)** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2002.

SANTOS, R. H. A. **Origem e distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nas águas e no sedimento do Estuário do Rio Goiana (PE/PB – Brasil)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SARKAR, A., GAITONDE, D. C., SARKAR, A., VASHISTHA, D., D'SILVA, C., & DALAL, S. G. Evaluation of impairment of DNA integrity in marine gastropods (*Cronia contracta*) as a biomarker of genotoxic contaminants in coastal water around Goa, West coast of India. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 2, p. 473-482, 2008.

SARKER, S., VASHISTHA, D., SARKER, M. S., & SARKAR, A. DNA damage in marine rock oyster (*Saccostrea cucullata*) exposed to environmentally available PAHs and heavy metals along the Arabian Sea coast. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 151, p. 132-143, 2018.

SCARLETT, A.; DISSANAYAKE, A.; ROWLAND, S. J.; GALLOWAY, T, S. Behavioral, physiological, and cellular responses following trophic transfer of toxic monoaromatic hydrocarbons. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 28, n. 2, p. 381-387, 2009.

SCHINTU, M., BUOSI, C., GALGANI, F., MARRUCCI, A., MARRAS, B., IBBA, A., & CHERCHI, A. Interpretation of coastal sediment quality based on trace metal and PAH analysis, benthic foraminifera, and toxicity tests (Sardinia, Western Mediterranean). **Marine pollution bulletin**, v. 94, n. 1-2, p. 72-83, 2015.

SCOTT, G. R., & SLOMAN, K. A. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. **Aquatic toxicology**, v. 68, n. 4, p. 369-392, 2004.

SEMAS. Zoneamento Ambiental das Atividades Náuticas região do Estuário do Rio Formoso – PE, 2021. Disponível em: <https://semas.pe.gov.br/zoneamento-do-litoral-sul/>. Acessado em: outubro 2022.

SOARES, Lia Mara B. S. **Intemperismo natural do óleo que atingiu a costa de Pernambuco durante o desastre ocorrido no segundo semestre de 2019: comparação entre um costão rochoso (Itapuama) e a foz de um rio (Mamucabas)**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

TCEPE. **Conheça mais sobre Tamandaré.** Disponível em: <https://tomeconta.tce.pe.gov.br/tamandare>. Acessado em: novembro de 2023.

TELESH, I. V.; KHLEBOVICH, V. V. Principal processes within the estuarine salinity gradient: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 61, n. 4-6, p. 149-155, 2010.

TORREIRO-MELO, A. G. A., SILVA, J. S., BIANCHINI, A., ZANARDI-LAMARDO, E., & DE CARVALHO, P. S. M. Bioconcentration of phenanthrene and metabolites in bile and behavioral alterations in the tropical estuarine guppy *Poecilia vivipara*. **Chemosphere**, v. 132, p. 17-23, 2015.

UNEP, 1992. **Determination of Petroleum Hydrocarbons in sediments. Reference methods for marine pollution studies** 20, 75 pp.

van OOSTEROM, J., KING, S. C., NEGRI, A., HUMPHREY, C., & MONDON, J. Investigation of the mud crab (*Scylla serrata*) as a potential bio-monitoring species for tropical coastal marine environments of Australia. **Marine pollution bulletin**, v. 60, n. 2, p. 283-290, 2010.

VITÓRIO, E. L. R., ROJÁS, L. A. V., & ZANARDI-LAMARDO, E. Hidrocarbonetos de petróleo dissolvidos e/ou dispersos nas águas da região de Tamandaré-PE. **Tropical Oceanography**, p. 28-31.

WATSON, G. M., ANDERSEN, O. K., DEPLEDGE, M. H., & GALLOWAY, T. S. Detecting a field gradient of PAH exposure in decapod crustacea using a novel urinary biomarker. **Marine Environmental Research**, v. 58, n. 2-5, p. 257-261, 2004a.

WATSON, G. M., ANDERSEN, O. K., GALLOWAY, T. S., & DEPLEDGE, M. H. Rapid assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure in decapod crustaceans by fluorimetric analysis of urine and haemolymph. **Aquatic toxicology**, v. 67, n. 2, p. 127-142, 2004b.

WENNING, R. J.; INGERSOLL, C. G. **Summary of the Setac Pellston Workshop on use of Sediment Quality Guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediment.** Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). Pensacola FL, USA, 2002.

YUNKER, M. B.; MACDONALD, R. W.; VINGARZAN, R.; MITCHELL, R. H.; GOYETTE, D.; SYLVESTRE, S. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. **Organic geochemistry**, v. 33, n. 4, p. 489-515, 2002.

ZANARDI-LAMARDO, E.; SCHETTINI, C. A. Petroleum hydrocarbons in Brazilian Northeast continental shelf waters: baseline values. **Ocean and Coastal Research**, v. 70, p. e22004, 2022.

ZHU, L.; WANG, J. Sources and patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons pollution in kitchen air, China. **Chemosphere**, v. 50, n. 5, p. 611-618, 2003.