



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

Lucas Buruaem Moreira

**AVALIAÇÃO DE RISCO ECOLÓGICO DA
CONTAMINAÇÃO DE SEDIMENTOS E MATERIAL
DRAGADO NA REGIÃO DO PORTO DO MUCURIBE-CE
ATRAVÉS DE MÉTODOS ECOTOXICOLÓGICOS.**

FORTALEZA

2013

Lucas Buruaem Moreira

**AVALIAÇÃO DE RISCO ECOLÓGICO DA
CONTAMINAÇÃO DE SEDIMENTOS E MATERIAL
DRAGADO NA REGIÃO DO PORTO DO MUCURIBE-CE
ATRAVÉS DE MÉTODOS ECOTOXICOLÓGICOS.**

Tese apresentada ao Curso de Ciências
Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do
Mar, da Universidade Federal do Ceará, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Ciências Marinhas Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza
Abessa

Fortaleza - Ceará
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

M838a Moreira, Lucas Buruaem.

Avaliação de risco ecológico da contaminação de sedimentos e material dragado na região do porto do Mucuripe – CE através de métodos ecotoxicológicos / Lucas Buruaem Moreira. – 2013.

153 f.: il. color., enc. ; 30 cm.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2013.

Área de Concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos.

Orientação: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa.

Co-Orientação: Prof^a. Dr^a. Letícia Veras Costa-Lotufo

1. Avaliação de riscos ecológicos. 2. Gestão ambiental. 3. Mucuripe, Porto de (Fortaleza, CE). I. Título.

CDD 577.6

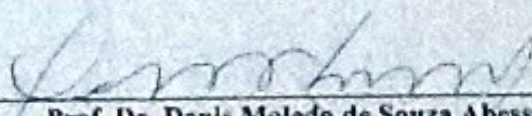
Lucas Buruaem Moreira

"Avaliação de risco ecológico da contaminação de sedimentos e material dragado na região do porto do Mucuripe-Ce através de métodos ecotoxicológicos".

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar - LABOMAR - Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais, área de concentração em Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos.

Aprovada em, 05 de agosto de 2013.

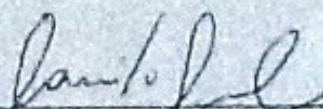
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa
UNESP - Universidade Estadual Paulista
(Orientador - Presidente)



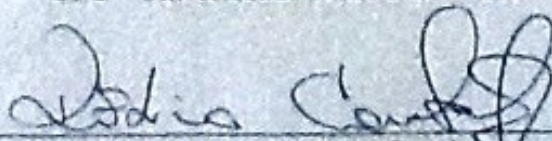
Prof. Dr. Wilson Thadeu Valle Machado
UFF - Universidade Federal Fluminense



Prof. Dr. Camillo Dias Seabra Pereira
UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo



Profa. Dra. Letícia Veras Costa-Lotuf
UFC - Universidade Federal do Ceará



Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcanti
UFC - Universidade Federal do Ceará

*Father can you hear me?
How have I let you down?
I curse the day that I was born
and all the sorrow in this world*

*Let me take you to the herding ground
where all good men are trampled down
Just to settle a bet that could not be won
between a prideful father and his son*

*Will you guide me now for I can't see a reason
for the suffering and this long misery
What if every living soul could be upright and strong?
Well then I do imagine*

*When all soldiers lay their weapons down
or when all kings and all queens relinquish their crowns
Or when the only true messiah rescues us
from ourselves it's easy to imagine*

*There will be,
Yeah there will be,
And there will be sorrow no more.*

Brett Gurewitz & Greg Graffin

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à minha família, minhas irmãs e especialmente meus pais, que fizeram de todo o possível para eu ser a pessoa que sou hoje.

Sou grato também ao Prof. Denis Abessa pela amizade ao longo desses anos de orientação e conselhos, sempre instigando a inquietação e curiosidade como combustível para a busca do conhecimento. Parafraseando nosso amigo Robson: “*Valeu Mestre!*”.

À Prof.^a Letícia Veras Costa-Lotufo pela co-orientação, por todo apoio durante o projeto e pela insistência em “tentar me consertar”, conforme dito agora a pouco (enquanto eu escrevia estes agradecimentos).

A Paula Jimenez, sempre ao meu lado e que faz valer toda a espera possível, caso seja, da sua companhia.

A Marcela (Tchuca), Luciane, Robson e Marcionília. Parte da caminhada com amigos como vocês é mais do que tranquila. Agradeço também ao Eduardo Freitas e Soldado, pela disponibilidade e apoio nas coletas. Vocês foram fundamentais nisso e se não fossem os sedimentos ressuspensos durante a dragagem os mergulhos seriam melhores.

Aos colegas do laboratório de Ecotoxicologia Marinha e todos os amigos da pós-graduação do LABOMAR. À direção e coordenação do LABOMAR pelo apoio no projeto e viabilização das coletas junto a DOCAS DO CEARA. A tripulação do Prof^o Martins Filho, em especial ao Miguel, Wilson e Prof^a Maria Ozilea Bezerra Menezes.

Aos colegas Renan (Daku), Lucas (Geléia), Giuliana (Malária), Tainá (Baiana), Roberta, Carol, Paloma, Fernando e demais colegas do Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática (NEPEA) da UNESP São Vicente, que me deixa orgulhoso pelas conquistas do grupo com vocês.

Aos meus amigos Luiz Eduardo (Lula), Gustavo (Sal), Thiago, Sena, Marcos, Danilo, Joaquim, Renato (gaúcho), Felipe, Rodrigo (Boracéia), Rafael Garça, André...

Aos professores Augusto Cesar e Camilo D.S. Pereira, e equipe do laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília.

Ao Prof^o Dr. Edmundo Ferraz Nonato e Dr^a. Mônica A.V. Petti (IO/USP), pela ajuda na identificação dos poliquetas, me dando a honra de trabalhar com um dos nomes mais importantes para a Biologia Marinha no Brasil.

À Sarah Rodrigues pelas análises de nutrientes e carbono orgânico.

Ao Prof. Jorge E.S. Sarkis e ao Marcos A Hortellani pela parceria e cooperação nas análises das concentrações de metais da etapa inicial deste estudo.

À Prof.^a Márcia Bicego, Dra. Satie Taniguchi e ao Dr. Silvio T. Sasaki pela cooperação nas análises de hidrocarbonetos.

Ao Prof. Luiz Drude de Lacerda, Profa. Rozane Valente Marins e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) de Transferência de Materiais Continente-Oceano pela cooperação nas análises pela parceria para viabilização das análises das concentrações de metais deste estudo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa sanduiche. A Prof.^a Laura Martin-Díaz, pela recepção, ajuda e conhecimentos que contribuíram significativamente para execução desta tese.

À Fundação Cearense de Apoio à Pesquisa (FUNCAP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos, possibilitando a dedicação necessária para o desenvolvimento do projeto.

Sumário

	Página
Contextualização e estrutura da tese.....	1
Área de estudo	4
 CAPÍTULO 1: Avaliação integrada da qualidade dos sedimentos do Porto do Mucuripe (Fortaleza/CE).	
1. Introdução.....	7
2. Materiais e Métodos.....	9
2.1. Área de estudo.....	9
2.2. Coleta, preparação e preservação das amostras.....	10
2.3. Análises sedimentológicas: Granulometria, teores de matéria orgânica e carbonatos de cálcio.....	11
2.4. Determinação das concentrações de carbono orgânico e fósforo.....	12
2.5. Determinação das concentrações de metais em sedimentos.....	13
2.6. Determinação das concentrações de hidrocarbonetos alifáticos, policíclicos aromáticos e alquilbenzenos lineares.....	14
2.7. Testes de Toxicidade.....	15
2.7.1. Testes de toxicidade de sedimento integral.....	15
2.7.2. Testes de toxicidade de fases líquidas do sedimento.....	16
2.7.3. Parâmetros físico-químicos.....	18
2.7.4. Análise dos dados.....	19
2.8. Estrutura da comunidade bentônica.....	19
2.9. Comparação com valores-guias de qualidade de sedimentos.....	20
2.10. Integração dos resultados.....	20
3. Resultados.....	22
3.1. Análises sedimentológicas, químicas, toxicidade e estrutura da comunidade bentônica.....	22
3.2. Comparação com valores-guias de qualidade de sedimentos.....	23
3.3. Integração dos resultados.....	25
4. Discussão.....	30
5. Conclusões.....	36
 CAPÍTULO 2: Respostas de biomarcadores em <i>Anomalocardia brasiliana</i> expostas a sedimentos e material dragado no Porto do Mucuripe.	
1. Introdução.....	38
2. Materiais e métodos.....	42
2.1. Organismo alvo.....	42
2.2. Estações de coleta e formas de exposição.....	44
2.3. Processamento do Material biológico.....	48
2.4. Análises físicas, químicas e testes de toxicidade com as amostras de água.	49
2.5. Análises sedimentológicas, e químicas dos sedimentos.....	50

2.6.	Testes de toxicidade com sedimentos.....	52
2.7.	Análise dos biomarcadores.....	53
2.8.	Integração dos resultados.....	57
3.	Resultados.....	58
3.1.	Caracterização das estações: Resultados das análises das amostras de água e sedimentos.....	58
3.2.	Resposta dos biomarcadores.....	62
3.2.1.	Exposição em campo.....	62
3.2.2.	Exposição em laboratório.....	69
3.3.	Integração dos Resultados	74
4.	Discussão.....	79
4.1.	Efeitos da dragagem sobre a qualidade ambiental.....	79
4.2.	Resposta dos biomarcadores.....	80
4.3.	Análise Integrada.	84
5.	Conclusões.....	86

CAPÍTULO 3: Valores de qualidade sítio-específicos para sedimentos superficiais da região do Porto do Mucuripe.

1.	Introdução.....	87
1.1.	Critérios e valores-guias de qualidade de sedimentos em áreas costeiras.....	90
1.2.	Critérios de qualidade de sedimentos obtidos por abordagens teóricas ou mecanística.....	91
1.3.	Critérios de qualidade de sedimentos obtidos por abordagens empíricas.....	94
1.4.	Valores de qualidade sítios-específicos obtidos por análise multivariada.	98
1.5.	Valores de qualidade de sedimentos no Brasil: histórico das regulações.	100
2.	Objetivos.....	105
3.	Materiais e Métodos.....	106
3.1.	Coleta de sedimentos.....	106
3.2.	Análises sedimentológicas e químicas dos sedimentos.....	106
3.3.	Testes de toxicidade com sedimentos.....	107
3.4.	Organização dos dados e análise multivariada para obtenção dos VQS.	108
4.	Resultados e Discussão.....	110
5.	Conclusões.....	121
	Referências Bibliográficas.....	122
	Anexo 1.....	140
	Anexo 2.....	141

Lista de Tabelas

Página

CAPÍTULO 1: Avaliação integrada da qualidade dos sedimentos do Porto do Mucuri (Fortaleza/CE).

Tabela 1 – Resultados das análises sedimentológicas, químicas, toxicidade e estrutura da comunidade bentônica das amostras do Porto do Mucuri.....	24
Tabela 2 – Comparação dos resultados das análises químicas com valores-guias de qualidade de sedimentos. Violações em negrito.....	25
Tabela 3 – Resultado da análise de componentes principais (PCA) com 2 matrizes e correlações de Pearson das variáveis a cada componente.....	27
Tabela 4 - concentrações de metais em $\mu\text{g g}^{-1}$ em diferentes regiões portuárias.....	32
Tabela 5 – Distribuição de hidrocarbonetos em sedimentos de diferentes regiões do Litoral do Brasil.....	33
Tabela 6 – Conclusões nos resultados das três linhas de evidência empregadas para as amostras do Porto do Mucuri.	37

CAPÍTULO 2: Respostas de biomarcadores em *Anomalocardia brasiliensis* expostas a sedimentos e material dragado no Porto do Mucuri.

Tabela 1 – Parâmetros de qualidade de água e resultados dos testes de toxicidade das amostras de água superficial (S) e fundo (F) coletadas nas estações de exposição na região do Porto do Mucuri.	59
Tabela 2 – Resultado das variáveis sedimentológicas, e químicas e resultados dos testes de toxicidade dos sedimentos coletados nas estações de exposição na região do Porto do Mucuri.	61
Tabela 3 – Matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores nas brânquias de <i>A. brasiliensis</i> expostas em campo. Correlações significativas em negrito.	68
Tabela 4 - Matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores nas glândulas digestivas de <i>A. brasiliensis</i> expostas em campo. Correlações significativas em negrito.....	68
Tabela 5 – Matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores em <i>A. brasiliensis</i> expostas em laboratório. Correlações significativas em negrito.....	74
Tabela 6 – Integração dos dados da exposição em campo baseada nos resultados da PCA. Correlações das variáveis e efeitos biológicos com os eixos e % de contribuição de cada eixo na variância dos dados.....	75
Tabela 7 – Integração dos dados da exposição em laboratório baseada nos resultados da PCA. Correlações das variáveis e efeitos biológicos com os eixos e % de contribuição de cada eixo na variância dos dados.....	77

CAPÍTULO 3: Valores de qualidade sítio-específicos para sedimentos superficiais da região do Porto do Mucuripe.

Tabela 1- Resultados das análises sedimentológicas, químicas e toxicidade das amostras do Porto do Mucuripe para obtenção dos VQS.....	111
.Tabela 2 - Resultado da análise de PCA do tipo fatorial e correlações de Pearson das variáveis com cada fator. Correlações em negrito.....	113
Tabela 3 – Projeções dos fatores (<i>scores</i>) calculados para cada estação de coleta.	114
Tabela 4 – Valores de qualidade de sedimentos sítio-específicos (VQS) calculados para sedimentos do Porto do Mucuripe.....	114
Tabela 5 - Compilação dos VQS aplicados em diferentes países.....	117

Lista de Figuras

Página

CAPÍTULO 1: Avaliação integrada da qualidade dos sedimentos do Porto do Mucuripe (Fortaleza/CE).

Figura 1 – Estações de coleta de sedimentos na região do Porto do Mucuripe.....	11
Figura 2 – Teste de toxicidade com sedimento integral. a= <i>Tiburonella viscana</i> (foto extraída de Abessa 2002); b= sistema de exposição do teste de toxicidade.....	16
Figura 3- Larvas pluteus do ouriço-do-mar <i>Lytechinus variegatus</i> . a= larvas com desenvolvimento normal; b = Larvas com desenvolvimento anômalo.....	17
Figura 4 – Agitador mecânico utilizado no preparo dos elutriatos.....	17
Figura 5 – Sistema de exposição do teste de toxicidade com interface sedimento-água.....	18
Figura 6 - ordenação do tipo bi-dimensional dos componentes 1 e 2 da PCA.....	28
Figura 7 – Valores RTMes calculados para as amostras do Porto do Mucuripe.....	29

CAPÍTULO 2: Respostas de biomarcadores em *Anomalocardia brasiliiana* expostas a sedimentos e material dragado no Porto do Mucuripe.

Figura 1 – Localização da praia da Requenguela no município de Icapuí, CE, Brasil.....	43
Figura 2 – Organismo alvo utilizado no estudo.....	44
Figura 3 – Localização das estações de coleta de sedimentos e exposição de bivalves <i>in situ</i> no Porto do Mucuripe.....	45
Figura 4 – Visão geral das estações de coleta de sedimentos e exposição de bivalves <i>in situ</i> no Porto do Mucuripe.....	46
Figura 5 – Atividade enzimática da EROD nas brânquias e glândulas digestivas de <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo.....	62
Figura 6 - Atividade enzimática da GST nas brânquias e glândulas digestivas de <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo.....	63

Figura 7 – Atividade enzimática da GPx nas brânquias e glândulas digestivas de <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo.....	64
Figura 8 – Atividade enzimática da GR nas brânquias e glândulas digestivas de <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo.....	65
Figura 9 – Peroxidação lipídica nas brânquias e glândulas digestivas de <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo.....	66
Figura 10 – Danos em DNA (quebra das fitas) nas brânquias e glândulas digestivas de <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo.....	67
Figura 11 – Atividade enzimática da AChe nas <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.....	69
Figura 12 – Atividade enzimática da EROD nas <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.....	70
Figura 13 – Atividade enzimática da GST nas <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.....	70
Figura 14 – Atividade enzimática da GPx nas <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.....	71
Figura 15 – Atividade enzimática da GR nas <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.....	72
Figura 16 – Peroxidação lipídica nas <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.	72
Figura 17 – Danos em DNA (quebra das fitas) em <i>A. brasiliiana</i> expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.....	73
Figura 18 – Ordenação bidimensional dos Eixos 1 e 2 baseado nos resultados da PCA com os dados da exposição em campo.....	76
Figura 19 – Ordenação bidimensional dos Eixos 1 e 2 baseado nos resultados da PCA com os dados da exposição em laboratório.....	78

CAPÍTULO 3: Valores de qualidade sítio-específicos para sedimentos superficiais da região do Porto do Mucuripe.

Figura 1. Exemplo hipotético de um BDEB com os respectivos valores de ERL e ERM.	96
Figura 2 – Curva hipotética de concentrações de contaminantes x incidência de efeitos tóxicos (modificado de Macdonald <i>et al.</i> 1996).....	97
Figura 3 – Estações de coleta de sedimentos para obtenção dos VQS do Porto de Mucuripe.....	109
Figura 4 – Dispersão das mVQS x % de mortalidade de anfípodos nas amostras coletadas no Porto o Mucuripe.....	120

Resumo

Nas zonas portuárias a contaminação dos sedimentos gera prejuízos econômicos, impactos ambientais e riscos ecológicos. Em alguns casos, esses impactos comprometem as operações de dragagem e disposição oceânica dos sedimentos. A partir desse cenário, as Avaliações de Risco Ecológico visam determinar impactos ecológicos causados por atividades antrópicas, que podem induzir efeitos adversos sobre os indivíduos, populações, comunidades ou ecossistemas de forma a auxiliar na identificação de problemas ambientais e na geração de bases científicas para as ações de gestão. Já os métodos ecotoxicológicos estimam os efeitos de contaminantes presentes em compartimentos ambientais sob os organismos não alvos, auxiliando dessa forma na avaliação da forma de exposição e dos efeitos, necessários para caracterização dos riscos. Nesse contexto este trabalho apresenta um estudo de avaliação de risco ecológico da contaminação dos sedimentos e dragagem do Porto do Mucuripe utilizando as seguintes abordagens ecotoxicológicas: (1) Estudo integrado através da Tríade da Qualidade dos Sedimentos; (2) Estudo das respostas de biomarcadores em moluscos bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* expostos a sedimentos e material dragado no Porto do Mucuripe; e (3) obtenção da faixa de efeito biológico correspondente aos valores de qualidade de sedimentos sítio-específicos para amostras coletadas na região do Porto. Os resultados mostraram a influência das fontes de contaminação sobre a toxicidade dos sedimentos, estrutura da comunidade bentônica e na respostas dos biomarcadores dos organismos expostos em campo e em laboratório. Através da obtenção dos valores de qualidade de sedimentos foi possível observar que os efeitos biológicos ocorrem em baixas concentrações, comparados aos valores de referências apresentados em legislações nacionais e internacionais, o que indica falhas por parte desses valores na predição de impactos associados a toxicidade. Os resultados apresentados neste estudo representam informações relevantes no que se refere ao conhecimento da qualidade dos sedimentos em áreas portuárias no Litoral Brasileiro, em especial no Estado do Ceará.

Palavras-chave: Avaliação de risco ecológico, qualidade de sedimentos, dragagem, poluição marinha, gestão ambiental

Abstract

In harbor areas, sediment contamination promotes environmental impacts, economic losses and ecological risks. In some cases these impacts compromise dredging and oceanic disposal of the contaminated sediment. In this scenario, the Ecological Risk Assessments aim to determine ecological impacts caused by anthropogenic activities, which can induce adverse effects on individuals, populations, communities and ecosystems in order to assist in identifying environmental problems and the generation of scientific basis for management initiatives. Ecotoxicological approaches estimate the effects of contaminants in environmental compartments (or not) under non-target organisms, assisting, thus, in the type of exposure and the effects evaluations necessary for risk characterization. In this context, this research presents a study on Ecological Risk Assessment of sediment contamination and dredging operations of the Mucuripe Harbor using the following ecotoxicological approaches: (1) integrated assessment of sediments through the Sediment Quality Triad approach; (2) biomarkers responses in the bivalve mollusk *Anomalocardia brasiliiana* exposed to sediments and dredged material in the Mucuripe Harbor; and (3) obtaining the range of biological effect corresponding to the site-specific sediment quality values from samples collected in the Harbor area. The results herein showed the influence of contamination sources on sediment toxicity, benthic community and biomarker responses of organisms exposed in the field and in the laboratory. By obtaining site-specific sediment quality values, it was possible to observe that the biological effects occur at low concentrations compared to reference values presented in national and international guidelines, indicating, thus, failure of these values in predicting impacts related to toxicity. Also, the results presented in this study provide information concerning the knowledge of sediment quality in harbor areas in the Brazilian Coast, especially in the Ceará state.

Keywords: Ecological Risk Assessment, sediment quality, dredging, marine pollution, environmental management

1. Contextualização e estrutura da tese

As Avaliações de Risco Ecológico (ERA - do inglês "*Ecological Risk Assessment*") visam determinar impactos ecológicos causados por atividades humanas consideradas como fator de estresse ambiental e que podem induzir efeitos adversos sobre os indivíduos, populações, comunidades ou ecossistemas. Essas avaliações ajudam na identificação de problemas ambientais, no estabelecimento de prioridades e na geração de bases científicas para as ações de gestão (USEPA, 1992). Segundo Hill *et al.* (2000), as avaliações de risco ecológico são elaboradas em critérios principais:

1-) Formulação do Problema - Consiste no levantamento de informações do ambiente subsidiando o objetivo da avaliação e identificando os potenciais agentes estressores, fontes poluidoras e os componentes ecológicos relevantes como alvos em potencial;

2-) Avaliação da exposição e dos efeitos – Envolve a definição das formas e pontos de contato dos alvos (organismos, populações e ecossistemas) com os contaminantes e a determinação e caracterização espacial e temporal dos efeitos ecológicos adversos, associados à exposição aos fatores de stress.

3-) Caracterização de risco - Integração de dados e resultados dos critérios anteriores para caracterização e apresentação dos riscos.

Nesse contexto, as abordagens ecotoxicológicas têm como princípio a utilização de métodos para estimar os efeitos de substâncias biologicamente ativas (contaminantes) a partir da sua presença em compartimentos ambientais, sob organismos não alvos, desde níveis moleculares e bioquímicos até níveis mais elevados de organização (Walker *et al.*, 1996). Essas abordagens são importantes para a proteção e conservação dos ecossistemas, necessários para traduzir o significado ecológico dos níveis de contaminação e fornecem indícios do grau de biodisponibilidade dos poluentes.

Dentre os compartimentos ambientais, os sedimentos são o destino final de muitos compostos, e dessa forma eles podem passar a atuar como fonte secundária de contaminantes para o ambiente aquático, apresentando maiores concentrações em relação à coluna d'água. Além disso, o comprometimento da qualidade dos sedimentos em regiões portuárias afeta diretamente, além do equilíbrio ecológico, as atividades de dragagens e disposição do material dragado, quando necessárias (Riba *et al.*, 2004a,b; Burton & Johnston, 2010).

Dentre as abordagens ecotoxicológicas para avaliação de risco e qualidade de sedimentos, tem sido utilizados bioensaios ou “testes de toxicidade”, que determinam pela exposição de organismos sensíveis as amostras, efeitos letais ou sub-letais durante um período do seu ciclo de vida e com isso, os efeitos são observados quando estes já se manifestam em níveis superiores de organização biológica. Além do seu emprego isolado, os testes de toxicidade podem fazer parte de investigações mais complexas. Estudos integrados de qualidade dos sedimentos têm sido desenvolvidos desde a década de 80, como a Tríade da Qualidade dos Sedimentos - TQS (Long & Chapman, 1985; Chapman *et al.*, 1987) que envolve a integração de três aspectos principais de qualidade ambiental dos sedimentos como linhas de evidência: as análises geoquímicas, a toxicidade e alterações na comunidade bentônica. Entretanto, com a tendência de utilização de métodos modernos e sensíveis de detecção de efeitos biológicos, Chapman & Hollert (2006) discutem sobre a importância de diferentes linhas de evidência e sua integração aos componentes originais da tríade, considerando a utilização de estudos de biomarcadores em organismos bentônicos, com a verificação dos efeitos em laboratório e também em campo (*in situ*).

Tendo em vista a diversidade geoquímica na composição e complexidade das matrizes sedimentares ao longo da costa brasileira, se faz necessário o entendimento dos diferentes processos de contaminação da zona costeira, principalmente na região tropical, como é o caso da região Nordeste. Nesse sentido, o uso de abordagens ecotoxicológicas como subsídio para avaliação de risco pode ser utilizada como base para a compreensão mais

profunda dos problemas causados pela poluição nas áreas portuárias, principalmente aqueles relacionados com as dragagens.

Localizada na Região Metropolitana de Fortaleza, a enseada do Mucuripe possui fontes significativas de contaminação: abriga um dos principais portos da região Norte/Nordeste, o Porto do Mucuripe, que é potencialmente fonte de impactos devido às suas atividades de operação e que sofre periodicamente com atividades de dragagem dos sedimentos para manutenção da sua profundidade de navegação. Além disso, é também local de lançamento dos efluentes tratados e também o descarte de esgotos e aporte das águas de drenagem da zona urbana da Região Metropolitana de Fortaleza.

Trabalhos pretéritos já realizados na região mostram evidências de contaminação originada dessas fontes (Vasconcelos & Melo, 1996; Maia, 2004; Buruaem *et al.*, 2012). Contudo, considerando as fontes de contaminação da região, o objetivo principal deste estudo é avaliar a qualidade dos sedimentos coletados na Enseada do Mucuripe por meio de abordagens ecotoxicológicas de diferentes linhas de evidência no sentido de caracterizar os riscos ecológicos associados aos níveis de contaminação dos sedimentos da Região. Para atingir este objetivo, os objetivos específicos foram divididos em três capítulos:

- CAPÍTULO 1: Avaliação integrada da qualidade dos sedimentos do Porto do Mucuripe (Fortaleza/CE). Nesta etapa inicial é apresentado um estudo integrado dos níveis de contaminação dos sedimentos superficiais com efeitos biológicos medidos através de testes de toxicidade e indicadores ecológicos da estrutura da comunidade bentônica. Para a integração dos resultados é empregada a Tríade da Qualidade dos Sedimentos;
- CAPÍTULO 2: Respostas de biomarcadores em *Anomalocardia brasiliiana* expostas a sedimentos e material dragado no Porto do Mucuripe. O objetivo desta etapa é avaliar os efeitos biológicos da dragagem e ressuspensão dos sedimentos, medidos através de testes de toxicidade e respostas de

biomarcadores em bivalves da espécie *A. brasiliiana* expostos em campo e em laboratório;

- CAPÍTULO 3: Valores de qualidade sítio-específicos para sedimentos superficiais da região do Porto do Mucuripe. Por fim, a partir dos efeitos biológicos determinados nas diferentes campanhas de amostragem, este capítulo final apresenta a faixa de concentrações de contaminantes em sedimentos que corresponde a ocorrência dos efeitos biológicos, medidos através de testes de toxicidade.

2. Área de estudo

Conforme já mencionado, o presente trabalho foi desenvolvido no Porto do Mucuripe e que está localizada na enseada de Mucuripe, região metropolitana de Fortaleza (CE). O litoral cearense é marcado por um clima tropical chuvoso (AW), quente e úmido influenciado pela Zona de Convergência Intertropical (ZCIT) com chuvas de verão e outono, com precipitação média anual de 1642,3 mm, sendo os meses mais chuvosos de Janeiro a Junho e os mais secos de Julho a Dezembro (Fundação Cearense de Meteorologia - FUNCEME), com variações em períodos de *El Niño* no período seco e *La Niña*, intensificando as chuvas (Paula *et al.*, 2013). Nesse setor há a predominância de ventos alísios de E-SE com velocidade média ente 4-7 m/s, que determinam a dinâmica das ondas e as correntes de leste (90°) que ocorrem em 95% do período anual com o transporte de sedimentos nesse sentido. A temperatura média anual é de 27°C, com uma evaporação média anual de 1469,2 mm (Maia *et al.*, 1996; Jimenez & Maia, 1999; Nogueira *et al.*, 2005; Paula *et al.*, 2013).

Em relação à sedimentologia, as áreas compreendem o segmento da Bacia do Ceará, dentro da Bacia sedimentar da margem continental brasileira. Como característica da plataforma continental do nordeste, a composição dos sedimentos é em quase total maioria de carbonato de cálcio biogênico, sendo a textura dos sedimentos da plataforma externa (isóbata de 40 m) coberta por cascalhos, e os sedimentos da plataforma interna (abaixo da isóbata de 20 m) com predominância de areias com pouco cascalho e baixos teores de lamas

(abaixo dos 2,5 %). A fração carbonática é composta por cerca de 75 a 95 % de CaCO_3 biogênico e a fração terrígena dominada por areias quartzosas, feldspatos, minerais pesados e argilas (Marques, 2008).

2.1. O Porto do Mucuripe

Administrado pela Companhia Docas do Ceará (CDC), é um dos principais portos da região Nordeste, movimentando grande parte dos bens comercializados no estado do Ceará e em parte do Rio Grande do Norte.

É considerado um porto marítimo artificial, e sua área abrigada navegável é composta pelo canal de acesso, pelas áreas de fundeio e bacias de evolução, protegidas por dois quebra-mares construídos paralelamente à costa, com disposição vertical irregular e constituídos por rochas graníticas, sendo: o “Titãzinho”, com aproximadamente 700 m de comprimento e 14m de altura e o “Titã”, com 1910 m de comprimento e 10 m de altura (Maia *et al.*, 1998). As instalações do porto organizado consistem em cais comercial, píer petroleiro e cais pesqueiro. O cais comercial possui o comprimento de 1.116 m com extensão operacional de 1.047 m. O píer petroleiro é constituído por uma ponte de acesso com comprimento total de 853 m e uma plataforma de atracação com dois berços sendo interno e externo, com 90 m e 28 m de comprimento e profundidades de 11 m e 12 m. O cais pesqueiro é localizado a sudeste das instalações portuárias e possui comprimento total de 210 m e profundidade variável de 3 m a 5 m. Esse cais é utilizado quase que exclusivamente por barcos de pesca, não dispondo de equipamentos ou instalações de suprimento (DOCAS DO CEARA, 2008).

A retroárea portuária abriga moinhos de trigo e silos com capacidade para 38.000 toneladas, nove distribuidoras de combustíveis, um parque de triagem da Companhia Ferroviária do Nordeste (CFN) e uma fábrica de gordura vegetal hidrogenada e margarina (Maia, 2004). Além dessas empresas, está localizada na região do porto a “Lubrificantes do Nordeste” – Unidade Petrobrás (LUBNOR), a qual tem seus efluentes industriais lançados na região do porto, através de um emissário localizado entre os berços de atracação do

cais comercial, podendo ser considerada a principal fonte de contaminantes na região do porto.

Com a implementação da estrutura portuária e principalmente com a construção dos quebra-mares, houve a alteração no balanço sedimentar, com mudanças observadas na interrupção do transporte de sedimentos e o avanço do mar na Região Metropolitana de Fortaleza e com isso houve a erosão das praias a oeste do porto (Maia *et al.* 1998). Como consequência disso, na região do Porto há também o comprometimento da área abrigada e do canal de navegação, com a difração das correntes induzidas pelos quebra-mares aliadas as fortes correntes resultando num alto hidrodinamismo nessa área, e nas regiões oeste dessas estruturas ocorreu a atenuação das ondas e correntes, promovendo assoreamento e deposição de sedimentos mais finos.

Com isso, esse fenômeno tem implicações econômicas para o porto, tornando necessária a realização de atividades de dragagem de manutenção por conta do assoreamento. Além disso, esses sedimentos são suscetíveis à presença de contaminantes (através das atividades do porto e lançamentos de efluentes industriais) tornando-os potencialmente tóxicos, de modo que a dragagem e disposição dos sedimentos acabam tendo sérias implicações ambientais.

No caso do Porto do Mucuripe, a CDC, administradora do Porto do Mucuripe, no seu programa de gestão ambiental portuária, busca a conciliação da Política de Modernização dos Portos com a Agenda Ambiental Portuária, e, através do Plano de Desenvolvimento e Zoneamento (PDZ) contempla o zoneamento ambiental do porto, identificação de áreas de risco, bem como a definição dos locais para serviços de apoio, incluindo o tratamento de resíduos e efluentes e o licenciamento para atividades de dragagens e áreas para o descarte do material dragado.

CAPÍTULO 1: Avaliação integrada da qualidade dos sedimentos do Porto do Mucuripe (Fortaleza/CE).

1. Introdução

As atividades portuárias são importantes para economia global, pois os portos e terminais portuários desempenham um papel fundamental no ciclo de vida dos bens produzidos e comercializados. No entanto, tanto sua instalação quanto suas atividades de operação são consideradas impactantes aos ecossistemas costeiros. Além disso, a proximidade dos ambientes costeiros com centros urbanos e industriais facilita o aporte de contaminantes, que ocorre pela liberação de lixo, esgotos e outros efluentes, queima de combustíveis, petróleo e seus derivados além de substâncias presentes em tintas anti-incrustantes nas embarcações (NRC, 1997; Buruaem *et al.*, 2012).

No ambiente aquático, os sedimentos constituem o destino de grande parte desses compostos, apresentando maiores concentrações de contaminantes em relação à coluna d'água (Burton, 1992; Riba *et al.*, 2004). Uma vez depositados no fundo, os contaminantes podem sofrer transformações, por processos biogeoquímicos (mobilidade e partição geoquímica, adsorção e formação de complexos) que variam de acordo com as condições do meio, e que alteram a sua biodisponibilidade ou originam formas mais ou menos tóxicas, resultando diretamente em efeitos letais ou sub-letais aos organismos bentônicos, e indiretamente sobre as cadeias tróficas superiores, através da bioacumulação e biomagnificação desses compostos, gerando potenciais riscos a saúde humana. Dessa forma, os sedimentos passam a atuar não apenas como destino, mas como fonte secundária de contaminação (Burton, 1992; DeIvalls & Conradi, 2000; Abessa, 2006; Chapman & Hollert, 2006).

Além dos riscos ecológicos, a contaminação dos sedimentos representa também um problema para a gestão ambiental portuária, pois existem impactos diretos e indiretos relacionados às atividades de dragagens, necessária para aprofundamento e manutenção dos canais de navegação e essas atividades afetam diretamente duas regiões distintas: (1) as áreas dragadas onde ocorre a

remoção e a ressuspensão de sedimentos, promovendo mudanças no meio e liberação de contaminantes; (2) e os sítios de disposição, que recebem o material dragado que por sua vez pode estar contaminado.

Por definição, **contaminação** é a presença de compostos onde eles não deveriam ocorrer ou a ocorrência em níveis acima do *background*, e a **poluição** é caracterizada quando a contaminação causa efeitos biológicos adversos (Chapman, 2007). Nesse sentido, ainda segundo Chapman (2007), determinar quando a contaminação resulta em poluição requer o uso integrado de abordagens químicas e biológicas, as quais constituem a base das avaliações de diferentes linhas de evidências de contaminação.

Dentre essas avaliações, estudos integrados de qualidade dos sedimentos têm sido desenvolvidos desde a década de 1980, como a Tríade da Qualidade dos Sedimentos - TQS (Long & Chapman, 1985; Chapman *et al.*, 1987) que envolve a integração de três aspectos principais de qualidade ambiental dos sedimentos como linhas de evidência: as análises químicas, a toxicidade e alterações na comunidade bentônica, permitindo dessa forma a identificação de áreas poluídas.

Recentemente no Brasil, o setor portuário vem crescendo alavancado pelo desenvolvimento de regiões antes pouco industrializadas (como a Região Nordeste, por exemplo). Ao mesmo tempo as movimentações nos portos têm sido impulsionadas, intensificando os impactos ambientais nessas áreas. No entanto, ainda hoje existe grande carência de estudos integrados de qualidade dos sedimentos das áreas portuárias, sendo as Regiões Sul e Sudeste as que dispõem de um volume maior de dados (Cesar *et al.*, 2007; Abessa *et al.*, 2008; Choueri *et al.*, 2009a)

Na capital do Estado do Ceará em Fortaleza, está localizado o Porto do Mucuripe que representa um importante instrumento econômico por ser um dos principais portos da região Nordeste, movimentando grande parte dos produtos comercializados no estado do Ceará e em parte do Rio Grande do Norte. Além das atividades de operação portuária, nessa região ocorrem também o refino de petróleo e o lançamento de seus efluentes no mar. Há também a alta urbanização do Município de Fortaleza promovendo o lançamento de

contaminantes através de fontes difusas como a deposição atmosférica e escoamento superficial (Cavalcante *et al.*, 2010, 2011), além das atividades de dragagem, necessárias devido à alta deposição de sedimentos induzida pela presença do quebra-mar.

Esses vetores somados representam riscos ecológicos associados a contaminação e poluição dos sedimentos na região do Porto. Nesse sentido, o objetivo deste estudo é avaliar a qualidade dos sedimentos do Porto do Mucuripe através da abordagem da Tríade da Qualidade dos Sedimentos, de modo a identificar áreas contaminadas bem como os efeitos dessa contaminação e que possa auxiliar e/ou subsidiar ações de gestão ambiental que possam ser implementadas na região.

2. Materiais e Métodos.

2.1. Área de estudo

O Porto do Mucuripe está localizado na enseada de Mucuripe, na região metropolitana de Fortaleza (CE) e nesse setor o clima litoral cearense é caracterizado como tropical chuvoso (AW), quente e úmido, com chuvas de verão e outono, sendo os meses mais chuvosos de Janeiro a Junho e os mais secos de Julho a Dezembro. Em função da zona de convergência subtropical da região, há a predominância de ventos alísios na direção E-W que determina um alto transporte de sedimentos nesse sentido, (Jimenes & Maia, 1999; Nogueira *et al.*, 2005). Em relação à sedimentologia, a área compreende o segmento da Bacia do Ceará, dentro da Bacia sedimentar da margem continental brasileira. Neste segmento da plataforma continental do nordeste a característica principal é a composição dos sedimentos que é em total maioria de carbonato de cálcio biogênico, sendo a textura dos sedimentos da plataforma externa (isóbata de 40 m) coberta por cascalhos, e os sedimentos da plataforma interna (abaixo da isóbata de 20 m) com predominância de areias com pouco cascalho e baixos teores de sedimentos finos (abaixo dos 2,5 %). A fração carbonática é composta por cerca de 75 a 95 % de CaCO_3 biogênico e a fração terrígena dominada por areias quartzosas, feldspatos, minerais pesados e argilas (Freire 2004).

O Porto do Mucuripe é administrado pela Companhia Docas do Ceará (CDC) e é considerado um porto marítimo artificial, pois a sua área abrigada navegável é protegida por dois quebra-mares construídos paralelamente à costa, com disposição vertical irregular e constituídos por rochas graníticas (Maia *et al.*,1998). As instalações do porto organizado consistem em cais comercial, píer petroleiro e cais pesqueiro. Na retroárea portuária encontram-se moinhos de trigo e silos, distribuidoras de combustíveis, um parque de triagem da Companhia Ferroviária do Nordeste (CFN) e uma fábrica de gordura vegetal hydrogenada e margarina (Maia, 2004). Além dessas empresas, está localizada na região do porto a “Lubrificantes do Nordeste” – Unidade Petrobrás (LUBNOR), a qual tem seus efluentes industriais lançados na região do porto, através de um emissário localizado entre os berços de atracação do cais comercial.

2.2. Coleta, preparação e preservação das amostras

No Porto do Mucuripe, a coleta foi realizada no dia 31 de agosto de 2007 a bordo da B/Pq Prof. Martins Filho, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC). As amostras de sedimentos foram coletadas em 10 estações na região do Porto, sendo elas estabelecidas em: M1 e M2, localizadas próximas ao cais comercial e onde são lançados os efluentes da LUBNOR; M3, M4 e M5, localizadas no entorno do píer petroleiro; M5 e M6 e M8 situadas no canal de acesso, sendo M8 já nos limites da área abrigada; e M9 e M10 localizadas nas zonas desabrigadas e próximas ao quebra-mar (Figura 1).

As amostras para as análises sedimentológicas, químicas e ecotoxicológicas foram coletadas e compostas em um pool de 3 réplicas com auxílio de um pegador de fundo tipo *van Veen* (com área de 0,055 m² e capacidade de 3Kg de sedimentos) e mantidas sob refrigeração durante o transporte até os laboratórios de Ecotoxicologia Marinha do LABOMAR para posterior processamento. Para os testes de toxicidade, alíquotas foram separadas e acondicionadas em potes de polietileno a 4°C até a realização dos ensaios. Já para as análises sedimentológicas e químicas, alíquotas de

amostras foram secas a 40°C para cada variável, exceto para os contaminantes orgânicos, as quais foram acondicionadas em recipientes de alumínio e mantidas a -20°C. Para avaliação da estrutura da macrofauna bentônica, ainda em campo foram coletadas três réplicas verdadeiras de cada estação, fixadas em formalina 4% no momento da coleta, ainda na embarcação durante o transporte ao laboratório para posterior triagem.

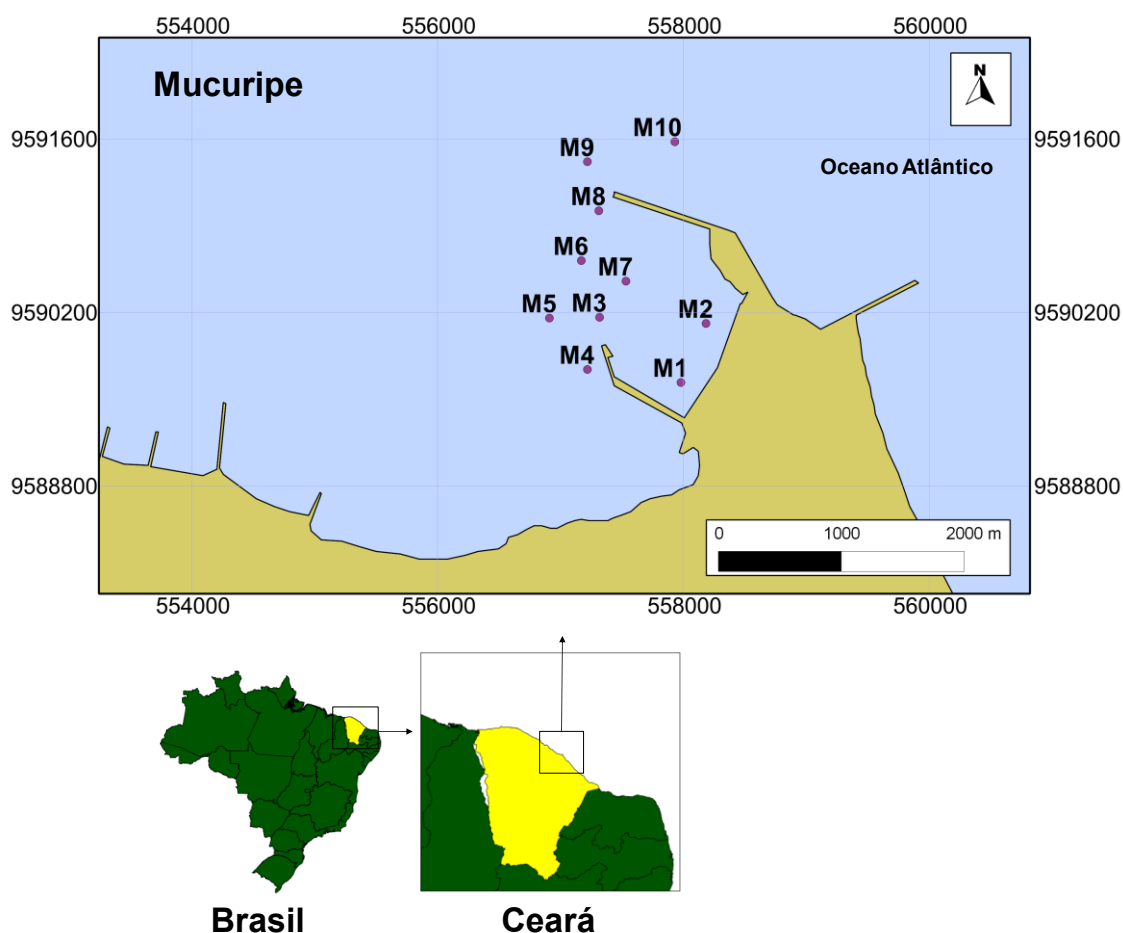


Figura 1 – Estações de coleta de sedimentos na região do Porto do Mucuripe

2.3. Análises sedimentológicas: Granulometria, teores de matéria orgânica e carbonatos de cálcio.

A determinação das frações granulométricas foi feita através do peneiramento úmido das amostras secas (50g) em malha de 0,063 mm com o objetivo de separar a fração de sedimentos finos (silte+argila). Em seguida,

com as frações remanescentes foram feitos peneiramentos secos com auxílio de um agitador mecânico (Shaker) com a separação das diferentes frações, de acordo com a escala de Wentworth (Wentworth, 1992). O resultado da análise é expresso em % das frações principais: cascalho (>2mm), areia (>0,063 – 2mm) e finos (<0,063mm).

A estimativa dos teores de carbonato de cálcio (CaCO_3) foi feita seguindo o método descrito por Gross (1971), no qual amostras de sedimento seco (10 g) foram digeridas com ácido clorídrico (HCl 0,1M) para eliminação dos carbonatos e em seguida lavadas com água destilada sobre papéis filtro cujo peso era previamente conhecido, sendo então secas em estufa a 60 °C e novamente pesadas. A diferença entre o peso final e o inicial correspondeu à estimativa do teor de carbonatos.

A determinação dos teores de matéria orgânica (MO) foi feita através do método de combustão e gravimetria (Luczak *et al.*, 1997), onde 20g de sedimento seco foram digeridos com ácido clorídrico (HCl 0,1M) para remoção do CaCO_3 . Em seguida, as amostras foram lavadas com água destilada em papéis filtro previamente pesados, secas em estufa a 60 °C em seguida, 5g de sedimento seco e livre de carbonatos foram pesados em cadinhos e levados para queima em mufla, a uma temperatura de 450°C por 24h. O valor de matéria orgânica foi obtido pela diferença de massa das amostras antes e após a queima, e expressa em %.

2.4. Determinação das concentrações de Carbono orgânico e fósforo.

A concentração de carbono orgânico total (TOC) das amostras foi obtida através do analisador de carbono orgânico total (TOC –V CPH Shimadzu) acoplado com módulo para amostras sólidas (SSM – 5000^a Shimadzu). Para carbono total, primeiramente foi feita a digestão das amostras com ácido clorídrico (0,1M) para remoção dos carbonatos de cálcio. Em seguida, com os sedimentos secos, uma alíquota de aproximadamente 0,02g foi aferida em cadinhos de porcelana e levada ao analisador.

Para a análise do e fósforo total (P) foi tomada uma fração de aproximadamente 0,06 g de sedimento seco e macerado, a qual foi oxidada com uma solução de persulfato de potássio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$) em autoclave para conversão de toda a porção orgânica em inorgânica. Após a oxidação, 10 mL da solução contendo a amostra foram utilizadas para a determinação de fósforo total na forma de nutriente inorgânico, através do método colorimétrico descrito por Grasshoff *et al.* (1999), quantificados em espectrofotometro UV a 880nm (P).

2.5. Determinação das concentrações de metais em sedimentos

As análises foram realizadas no Laboratório de Caracterização Isotópica do Centro de Química e Meio Ambiente, no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares em São Paulo (SP) sob a coordenação do Prof. Dr. Jorge E. Sarkis.

Os teores de metais foram determinados na fração total das amostras secas (com remoção de cascalhos, em M10) através do método de Digestão Assistida por Microondas, descrito em EPA 3051A (USEPA, 1996). Neste método, as amostras de sedimento (0,5g) foram digeridas em tubos de PTFE (Teflon®) com adição de 12 ml de água régia (HCl/HNO_3) e levados para aquecimento em um sistema de microondas modelo MDS—2000 (CEM Corporation). A leitura da concentração dos metais Al, Fe, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn nos extratos foi feita em um Espectrofotometro de Absorção Atômica em Chama modelo Varian Spectr-AAS-220-FS com correção com lâmpada de deutério para análise de Pb, Ni e Hg. Já as concentrações de Hg foram obtidas pela Geração de vapor frio através de um sistema de injeção em fluxo (FIA) acoplado ao Espectrofotometro. Para validação do procedimento de extração e leitura, foram analisados em triplicatas amostras do material de Referência SRM 2704 - Buffalo River Sediment e SRM-1646a - Estuarine sediments BRC® 667.

2.6. Determinação das concentrações de hidrocarbonetos alifáticos, policíclicos aromáticos e alquilbenzenos lineares

As análises das concentrações hidrocarbonetos alifáticos, policíclicos aromáticos e alquilbenzenos lineares foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica Marinha do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IOUSP), coordenado pela Prof^a. Dr.^a Márcia Caruso Bicego. A partir do congelamento a -20°C , as amostras de sedimento foram liofilizadas e homogeneizadas num almofariz com pilão. Antes da extração, foram adicionadas quantidades conhecidas de n-hexadeceno, n-eicoseno, naftaleno- d_8 , acenafteno- d_{10} , fenantreno- d_{10} , criseno- d_{12} , perileno- d_{12} e dodecil-benzeno-1 ($1\text{C}_{12}\text{LAB}$) como padrões internos em todas as amostras, incluindo branco e material de referência do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST SRM 1944). Em seguida, os extratos das amostras de sedimento foram preparados em Soxhlet com 80 ml de uma mistura 50% diclorometano/n-hexano, e concentrados a 1 ml, em rotoevaporador a vácuo, em banho de 30°C de seguindo a metodologia descrita em UNEP (1992).

Os extratos foram então fracionados em F1 para hidrocarbonetos alifáticos (AH) e alquilbenzenos lineares (LAB), e F2 para hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) por cromatografia em coluna de sílica-gel e alumina. As concentrações de AH foram determinadas por cromatografia gasosa 6890 da Agilent Technologies com detector de ionização de chama (GC-FID), enquanto as concentrações de LAB e HPA foram quantificadas em um cromatógrafo a gás Agilent 6890 acoplado a um espectrômetro de massa 5973N (GC/MS) no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM). Ambos os instrumentos foram equipados com uma coluna capilar HP-5MS (25m x 0,25mm; 0,25 μm) com a temperatura do injetor programada com rampa de 40°C por 1 minuto, elevada até 60°C a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$, e após até 300°C a $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$, onde foi mantida por 10 minutos. Os cálculos finais foram feitos através de curvas analíticas de calibração usando padrões certificados (AccuStandard). A identificação dos LAB e HPA foi baseada nos tempos de retenção no GC dos padrões certificados e na quantificação individual dos íons.

2.7. Testes de Toxicidade

Os testes de toxicidade foram realizados no laboratório do Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática (NEPEA) do Campus Experimental do Litoral Paulista da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em São Vicente, SP, e no Laboratório de Ecotoxicologia “*Prof. Caetano Belliboni*” da Universidade Santa Cecília, em Santos. As amostras foram testadas quanto ao sedimento integral, pelo teste de toxicidade aguda com o anfípodo escavador *Tiburonella viscana* (Melo & Abessa, 2002; ABNT 2008), e quanto às fases líquidas, pelo teste crônico de curta duração com larvas do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (ABNT, 2012).

2.7.1. Testes de toxicidade de sedimento integral

Por serem representativos e considerados os mais sensíveis dentre as espécies bentônicas, estando entre os primeiros organismos a apresentar respostas aos sinais de contaminação, diversos anfípodos têm sido utilizados em testes de toxicidade para avaliação da qualidade de sedimentos. O teste de toxicidade de sedimento integral consiste na utilização do anfípodo escavador *T. viscana* (Thomas & Barnard, 1983) como organismo-teste (Figura 2a), segundo o procedimento descrito por Melo & Abessa (2002) e ABNT (2008).

O experimento consistiu na preparação do sistema em frascos de polietileno de 1 litro, em triplicata, e então as amostras de sedimento foram introduzidas nas câmaras-teste em alíquotas de aproximadamente 175 ml. Em seguida, foram acrescentados 750 ml de água do mar filtrada obtida no próprio local de coleta dos organismos, compondo o sistema do experimento (Figura 2b). O teste foi conduzido pela exposição dos organismos às amostras (10 indivíduos por réplica) por um período de 10 dias sob condições controladas de temperatura e salinidade, e sob aeração e iluminação constantes, sendo observados os efeitos letais (mortalidade). Ao final do teste as amostras foram peneiradas e o número de organismos vivos contado. Como controle interno do experimento foi utilizado o sedimento do local de coleta dos organismos, na praia do Engenho D'Água. Os resultados são expressos em valores médios de % de mortalidade em cada amostra.

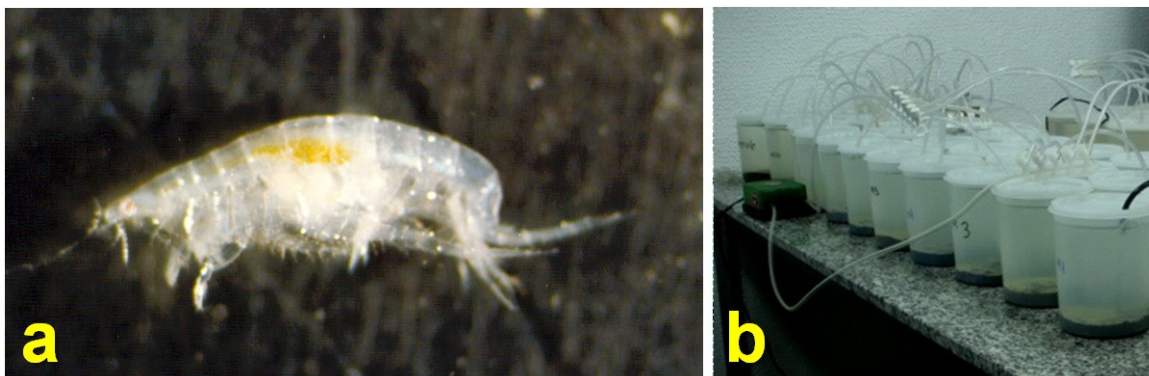


Figura 2 – Teste de toxicidade com sedimento integral. a= *Tiburonella viscana* (foto extraída de Abessa 2002); b= sistema de exposição do teste de toxicidade.

2.7.2. Testes de toxicidade de fases líquidas do sedimento

Para avaliação das fases líquidas, foram utilizadas as seguintes formas de exposição: água intersticial, elutriato e interface sedimento-água. O teste utilizado foi o ensaio crônico de curta duração com larvas do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*, conforme a Norma Técnica NBR 15350 (ABNT, 2012), na qual é feita a indução da liberação dos gametas e posteriormente a fecundação *in vitro*. O teste foi conduzido com a adição de cerca de 350 ovos a cada réplica do sistema. Foram montadas 4 réplicas para cada amostra, além do controle referente à água do mar filtrada, para observação de efeitos subletais (mal-formação das larvas) ao final do teste (Figura 3).

2.7.2.1. Testes de toxicidade de água intersticial

Nesse método, a água intersticial foi extraída do sedimento por meio de sucção (Winger & Lasier, 1991) e testada por procedimentos semelhantes aos utilizados para amostras de água e efluentes nas seguintes diluições: 100,50 e 25 %. A partir dos resultados das diluições, foram calculadas as concentrações de inibição de 14% das larvas (CI_{14}) utilizando o método de interpolação linear do programa ICPin® (Norberg-King, 1993). A escolha da CI_{14} foi feita com base nos níveis de efeito relevante calculados por Bertoletti *et al.* (2007) que assumem a variabilidade natural do desenvolvimento larval no teste, usados em teste de hipótese por bioequivalência.

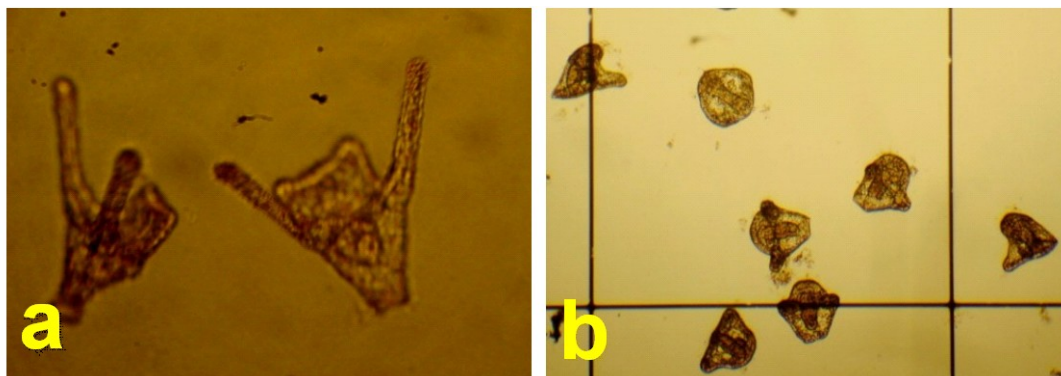


Figura 3- Larvas pluteus do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*. a= larvas com desenvolvimento normal; b = Larvas com desenvolvimento anômalo.

2.7.2.2. Testes de toxicidade com sedimento elutriado

Os elutriados foram preparados segundo o método Sediment Processing for Elutriate Toxicity Tests (USEPA, 2003) onde uma parte de sedimento foi adicionada a três partes de água de diluição para agitação mecânica com o uso de um aparelho agitador do tipo *Jar-Test* por 30 min (Figura 4). Em seguida as amostras permaneceram em repouso por um período de 24h para decantação do material em suspensão e posteriormente alíquotas do sobrenadante foram retiradas para realização dos testes de toxicidade. Os resultados são expressos em valores médios da % de mal-formação das larvas em cada amostra.



Figura 4 – Agitador mecânico utilizado no preparo dos elutriados

2.7.2.3. Testes de toxicidade com interface sedimento-água

Neste experimento foi utilizado o sistema-teste proposto por Anderson *et al.* (2001) e adaptado por Cesar (2003) para pequenos volumes. Para a realização dos testes, foram preparadas réplicas de cada amostra em tubos de ensaio. Em cada um deles foi adicionada uma porção de 2 ml de sedimento e sobre esta camada foi colocada uma rede de plâncton (100 μm) fixada por um anel plástico esterilizado, em seguida foram adicionados 8ml de água de diluição (Figura 5). O propósito da rede é constituir uma barreira física entre o sedimento e a água de diluição possibilitando a recuperação das larvas. O conjunto permaneceu em descanso por um período de 24h para posterior realização dos testes de toxicidade com larvas de ouriço do mar. Os resultados são expressos em valores médios da % de mal-formação das larvas em cada amostra.

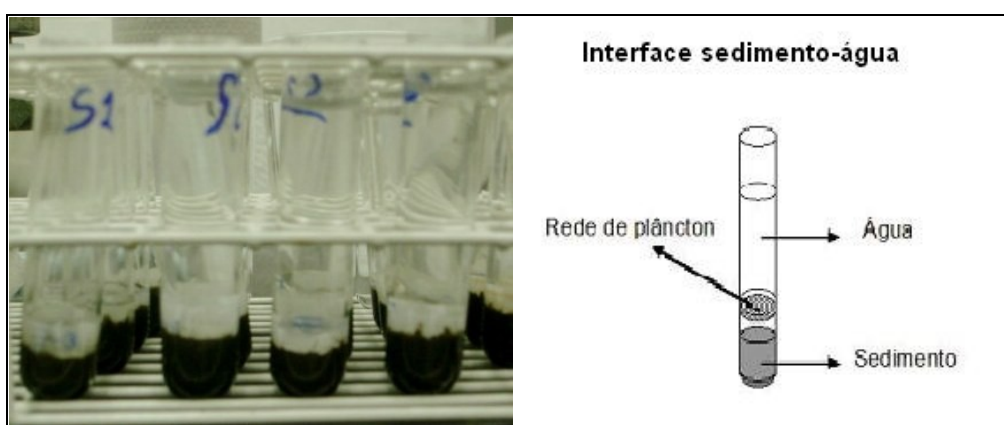


Figura 5 – Sistema de exposição do teste de toxicidade com interface sedimento-água

2.7.3. Parâmetros físico-químicos

Os seguintes parâmetros físico-químicos foram medidos durante a execução dos testes: salinidade por meio de um refratômetro, pH e oxigênio dissolvido pela utilização de sondas portáteis. Níveis de amônia (total e não ionizada) por ser um dos principais interferentes naturais ao teste com larvas de ouriço-do-mar (Prósperi, 2002) foram estimados através de um eletrodo seletivo para amônia, modelo ORION 95-12 nas amostras de água intersticial e

nos testes com interface sedimento-água e elutriatos o níveis de amônia foram medidos pelo método 4500 C de destilação e titulação (APHA, 1999).

2.7.4. Análise dos dados

Para análise estatística do teste com sedimento integral, os dados foram comparados com o sedimento do controle interno empregando o teste t'Student para os dados de sobrevivência dos anfípodos, enquanto para nos ensaios com fases líquidas os dados foram comparados com o controle da água do mar através do teste-t por bioequivalência usando a constante de 0,81. Antes da aplicação, os dados foram submetidos à avaliação do tipo de distribuição (normalidade) pelo teste do Chi-quadrado e homogeneidade de variâncias pelo teste de Fisher. Para estas análises, foi utilizado o software TOXSTAT - versão 3.5[®] (West & Gulley, 1996). As amostras diferentes significativamente do controle foram consideradas **tóxicas** ($p < 0,05$) e as que não apresentaram diferença significativa foram consideradas **não tóxicas**. Já os resultados do teste com água intersticial são apresentados em unidades tóxicas, uma vez que o índice de efeito utilizado (CI_{14}) apresenta uma relação inversa com a toxicidade (quanto menor o índice, maior a toxicidade).

2.8. Estrutura da comunidade bentônica

Os organismos coletados, triados e fixados foram identificados até o menor nível de organização possível, sendo os poliquetos identificados por Lucas Buruaem e Denis Abessa, com identificação confirmada pelo Dr. Edmundo Ferraz Nonato e pela Dr^a. Mônica Angélica Varella Petti (IOUSP), utilizando chaves de identificação para famílias e gêneros (Amaral & Nonato, 1996). Os moluscos foram identificados por Lucas Buruaem, com o uso da chave proposta por Rios (1984). Equinodermos e crustáceos identificados por Lucas Buruaem e Denis Abessa. Com base nos dados qualitativos e quantitativos dos organismos identificados, foram calculadas, para cada réplica as densidades totais de organismos por m^2 (número de indivíduos) e densidades relativas (em %) dos grupos Polychaeta, Mollusca, Crustacea, Nematoda e Echinodermata para cada estação. No sentido de determinar uma

análise descritiva da comunidade bentônica em cada local, foram calculados como descritores, os seguintes índices ecológicos: Diversidade de Shannon-Weaver (H') e Equitatividade, ($H'/H' \text{ max}$).

2.9. Comparação com valores-guias de qualidade de sedimentos

Uma vez que a área do porto é susceptível a atividades de dragagens, as concentrações dos contaminantes encontradas foram comparadas com os valores-guias de qualidade de sedimentos da Resolução CONAMA 454/12 (Brasil, 2012) que trata do gerenciamento de sedimentos dragados no país e de protocolos para o licenciamento dessas atividades. Tais valores correspondem a 2 limiares (Níveis 1 e 2, respectivamente), que indicam 3 categorias de contaminação para cada substância analisada: (1) concentração abaixo do “Nível 1” que indica boa qualidade em relação ao contaminante avaliado, com baixa probabilidade de efeitos adversos à biota; (2) concentração acima do “Nível 2” que indica grande probabilidade de efeitos adversos à biota; e (3) concentração entre os níveis 1 e 2 que indica possibilidade da contaminação causar efeitos adversos.

2.10. Integração dos resultados

Além da comparação das concentrações com valores-guias, foram utilizados também métodos estatísticos multivariados através da Análise dos Componentes Principais com Ordenação do tipo *Bi-Dimensional* (PCA) e aplicação dos valores “RTMe” para integração dos dados, no sentido de estabelecer associações entre as variáveis analisadas. Na PCA, os dados foram organizados em duas matrizes sendo a primeira composta pelas variáveis granulométricas, profundidade, CaCO_3 , MO, COT, P, metais, AH, HPA, LAB e os resultados dos testes de toxicidade. Já a segunda matriz foi composta pelos descritores da comunidade bentônica: n° de espécies, densidade total de organismos (Indivíduos), diversidade de Shannon (H'), equitabilidade e densidades de Polychaeta, Mollusca, Crustacea, Nematoda e Echinodermata.

Em cada matriz, os resultados expressos em % foram transformados pela função arco-seno, possibilitando a comparação com os dados contínuos e em seguida os dados da matriz foram normalizados pela função $\log(x)_e$, visando reduzir diferenças de grandeza entre as variáveis. Para as estações que apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção, foram considerados os próprios valores de limite de detecção para evitar a inclusão de valores “0” na matriz.

Já o método dos valores “RTMe” (Ratio-to-Mean) é uma adaptação proposta por Cesar *et al.* (2009) dos valores RTR (Ratio-to-Reference) de Long & Chapman (1985) e RTM (Ratio-to-Maximum Values) proposto por Del Valls e Chapman (1998). Estes métodos consistem na redução dos dados de cada linha de evidência em índices que combinados, evidenciam grau de degradação da qualidade de cada estação, dentro do conjunto de amostras.

Especificamente no método RTM_e , a partir da matriz de dados, cada variável foi transformada em um número adimensional pela divisão de cada valor pela respectiva média de todas as 10 estações, numa espécie de normalização pela média. Em seguida, para cada linha de evidência foi feita a média destes números, gerando 3 índices RTM_e sendo um para cada linha de evidência da amostra em questão. Com estes índices foram então construídos gráficos radiais de 3 eixos formando triângulos e a área calculada de cada um deles ($\text{área} = 1/2 * RTM_e 1 * RTM_e 2 * \text{sen}120^\circ$) representa o valor sítio-específico RTM_e que por sua vez refere o grau de degradação da amostra, ou seja, quanto maior a área da figura em relação aos valores médios, mais degradado está o local amostrado.

3. Resultados

3.1. Análises sedimentológicas, químicas, toxicidade e estrutura da comunidade bentônica

Os resultados são apresentados na Tabela 1. Em relação à granulometria, os sedimentos das estações do Porto do Mucuripe podem ser classificados como arenosos, com baixos teores de lama (silte+argila), exceto para estação M10 onde a fração predominante foi o Cascalho (40,82%). A matéria orgânica apresentou uma faixa de variação entre 0,13 e 16,22% e os teores de carbonatos variaram entre 5,74% a 34,96%, com os altos valores observados nas áreas abrigadas e em zonas de maior profundidade, o que indica uma maior deposição de materiais nessas estações. Padrão similar ao da matéria orgânica foi observado na distribuição dos teores de carbono orgânico total, com variação entre 0,16 e 1,43%. Já em relação a distribuição do P foi mais homogênea com variação de 0,09% a 0,48%.

Os resultados das análises químicas dos metais mostram um aumento nas concentrações de Al, Fe, Cr, Cu, Ni e Zn no sentido estações mais externas (M8 a M10) em direção as zonas abrigadas (M1 a M7) enquanto que as concentrações encontradas de Hg, Cd e Pb foram baixas. Distribuição similar a dos metais foi encontrada para as concentrações de hidrocarbonetos alifáticos (AH) e policíclico aromáticos (HPA), com os maiores valores encontrados nas estações das zonas abrigadas. Já as concentrações de alquilbenzenos lineares (LAB) foram baixas no geral, sendo detectadas apenas em M4 e M6.

Para os testes de toxicidade com sedimento integral (SI), as amostras das áreas abrigadas nos cais comerciais e no píer petroleiro (M1, M2, M3, M4 e M5) e na área do canal de acesso (M6, M7 e M8) apresentaram toxicidade, com altas taxas de mortalidade de anfípodos variando de 26,67 a 66,67%. Nas áreas desabrigadas (M9 e M10), não foi observada toxicidade. Nos testes com água intersticial (AI), os resultados são apresentados em Unidades Tóxicas (UT), ou seja, quanto maior o valor maior o efeito tóxico e com isso as amostras mais tóxicas foram M1, M5 e M7. Os resultados do teste com interface sedimento-água (ISA) aforam similares ao teste com sedimento

integral, com as maiores taxas de efeito sobre o desenvolvimento das larvas de *L. variegatus* observadas nas estações de M1 a M7. Por fim, no teste de toxicidade com elutriatos (ELU) M2, M3, M4 e M6 foram tóxicas.

Na estrutura da comunidade bentônica, 1351 indivíduos foram identificados, distribuídos entre 47 taxa. Sobre os descritores da comunidade bentônica, um baixo número de espécies foi encontrado por estação e em consequência disso baixos índices de diversidade foram calculados, sendo os maiores valores observados em M1, M3, M4, M5 e M7 enquanto que os baixos valores de equitabilidade foram observados em M2, M5, M9 e M10.

A listagem com a ocorrência das espécies é apresentada no ANEXO I. Polychaeta foi o grupo mais abundante (M1 a M7), seguidos por Mollusca (em M3, M6 e M9), Crustacea (em M2, M3 M5, M7, M8 e M9), Echinodermata (em M8, M9 e M10) e Nematoda (em M1, M2, M5 e M8). Houve também a ocorrência de Chaetognata em M2. As espécies mais frequentes foram: *Prionospio pinnata* > *Magelona posterolongata* > *Temnoconcha brasiliana* > *Laeonereis acuta* > *Nematoda* > *Glycera lapidum* > *Mellita quinquesperforata* > *Prionospio pygmaea* > *Magelona papillicorni* > *Scoloplos sp1* > *Sthenolepis grubei* > *Cossura cândida*.

3.2. Comparação com valores-guias de qualidade de sedimentos.

A comparação das concentrações de metais e HPA encontradas nas amostras do porto do Mucuripe com os valores-guias de qualidade de sedimentos da Resolução CONAMA 454/12 é apresentada na Tabela 2. Concentrações acima do nível 1 são observadas para o Cd (M3), Ni (M4) e Zn (M3, M5 e M7) enquanto que concentrações acima no nível 2 são observadas para o Zn (M1, M2, M4 e M6). Não foram observadas concentrações de HPA acima dos níveis 1 e 2. De acordo com a Resolução 454/12, tais violações podem resultar em riscos de toxicidade, corroborando os resultados dos testes de toxicidade apresentados na secção anterior.

Tabela 1 – Resultados das análises sedimentológicas, químicas, toxicidade e estrutura da comunidade bentônica das amostras do Porto do Mucuripe.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Profundidade (m)	7,40	15,00	15,40	14,70	10,70	14,60	9,60	9,60	11,90	12,60
Cascalho (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	40,82
Areia (%)	75,56	92,02	77,03	96,18	84,36	83,05	94,13	99,39	99,81	99,85
Finos (%)	24,03	7,86	22,74	2,42	15,56	16,74	5,45	0,59	0,08	0,00
MO (%)	5,61	12,72	5,99	16,22	3,28	8,64	12,23	0,96	0,57	0,13
CaCO ₃ (%)	18,28	30,26	25,05	34,96	15,72	26,60	22,19	9,41	5,74	8,58
COT (%)	0,94	1,43	0,96	1,40	0,44	1,11	0,85	0,16	0,18	0,22
P (%)	0,23	0,25	0,42	0,40	0,48	0,35	0,27	0,11	0,09	0,10
Al (%)	2,90	2,42	2,49	3,13	0,87	3,36	1,70	0,30	0,16	0,20
Fe (%)	1,94	2,39	1,85	2,47	0,80	1,99	1,66	0,29	0,13	0,28
Hg (µg/g)	0,04	< 0,03	0,03	0,04	< 0,03	0,04	0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Cd (µg/g)	0,90	0,85	1,41	0,64	< 0,60	0,60	< 0,60	< 0,60	< 0,60	< 0,60
Cr (µg/g)	38,00	38,10	32,32	50,13	13,45	41,48	26,89	5,23	3,33	5,16
Cu (µg/g)	13,82	15,46	11,20	16,76	3,71	12,13	9,77	0,49	0,00	1,01
Ni (µg/g)	16,54	19,89	16,66	21,49	6,95	17,78	15,24	7,20	< 2,00	5,29
Pb (µg/g)	2,59	6,69	3,58	2,60	< 2,00	2,54	2,06	< 2,00	< 2,00	< 2,00
Zn (µg/g)	469,33	535,82	399,58	583,51	199,46	420,90	365,65	62,64	25,03	41,98
ΣAH (µg/g)	25,36	19,09	17,60	21,15	1,06	2,46	13,48	1,01	0,46	0,34
ΣHPA (ng/g)	77,87	107,78	59,65	87,92	27,95	36,73	43,44	<1,00	<1,00	<1,00
ΣLAB (ng/g)	<0,85	<0,85	<0,85	5,84	<0,85	1,35	<0,85	<0,85	<0,85	<0,85
SI (% efeito)	66,67*	66,67*	43,33*	50,00*	40,00*	30,00*	26,67*	26,67	16,67	6,67
AI (UT)	26,18	3,00	3,00	3,00	10,54	3,10	15,50	3,20	6,01	3,00
ISA (% efeito)	78,25*	90,50*	92,00*	97,50*	75,75*	96,75*	82,25*	23,50	8,00	8,50
ELU (% efeito)	3,75	99,75*	89,00*	100,00*	4,50	32,75*	8,25	5,00	0,25	0,75
Especies/0,055 m ²	17	11	12	11	21	7	21	12	3	1
Individuos/0,055 m ²	218	97	85	91	297	85	309	133	30	6
Equitatividade/0,055 m ²	0,90	0,61	0,97	0,96	0,59	0,83	0,95	0,91	0,33	0,00
Diversidade/0,055 m ²	1,56	0,98	1,33	1,23	1,36	0,71	1,78	1,25	0,23	0,00
Polychaeta (%)	73,22	59,22	56,79	90,00	48,70	63,17	71,40	28,09	0,00	0,00
Mollusca (%)	14,48	13,63	24,09	0,00	19,04	26,83	10,80	16,99	30,00	0,00
Crustacea (%)	0,00	13,63	21,42	0,00	32,04	0,00	14,96	27,00	30,00	0,00
Nematoda (%)	8,30	18,74	0,00	0,00	12,60	0,00	0,00	17,57	0,00	0,00
Echinodermata (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	38,98	40,00	100,00

*=amostra tóxica, comparada ao controle interno (P<0,05), MO= matéria orgânica, COT= carbono orgânico total, ΣAH = hidrocarbonetos alifáticos totais, ΣHPA = hidrocarbonetos policíclicos aromáticos totais, ΣLAB= alquilbenzenos lineares totais, SI= sedimento integral, AI= água intersticial, ISA= interface sedimento água, ELU= elutriatos.

Tabela 2 – Comparação dos resultados das análises químicas com valores-guias de qualidade de sedimentos. Violações em negrito.

Estação	Hg (µg/g)	Cd (µg/g)	Cr (µg/g)	Cu (µg/g)	Ni (µg/g)	Pb (µg/g)	Zn (µg/g)	ΣHPA (ng/g)
M1	0,04	0,90	38,00	13,82	16,54	2,59	469,33	77,87
M2	<0,03	0,85	38,10	15,46	19,89	6,69	535,82	107,78
M3	0,03	1,41	32,32	11,20	16,66	3,58	399,58	59,65
M4	0,04	0,64	50,13	16,76	21,49	2,60	583,51	87,92
M5	<0,03	<0,60	13,45	3,71	6,95	<2,00	199,46	27,95
M6	0,04	0,60	41,48	12,13	17,78	2,54	420,90	36,73
M7	0,03	<0,60	26,89	9,77	15,24	2,06	365,65	43,44
M8	<0,03	<0,60	5,23	0,49	7,20	<2,00	62,64	<1,00
M9	<0,03	<0,60	3,33	0,00	<2,00	<2,00	25,03	<1,00
M10	<0,03	<0,60	5,16	1,01	5,29	<2,00	41,98	<1,00
Nível 1	0,3	1,2	81	34	20,9	46,7	150	-
Nível 2	1	7,2	370	270	51,6	218	410	4000

3.3. Integração dos resultados

O resultado da análise PCA é apresentado na Tabela 3. Os primeiro 3 componentes (eixos) explicam 84,88% das variâncias, apresentando a seguinte tendência dos dados:

- (i) Ao componente 1 (PC1) explica 66,46% das variâncias e representa, através de fortes correlações negativas, a deposição de sedimentos finos, enriquecidos organicamente, com elevadas concentrações de metais, AH e HPA e tóxicos para SI, ISA e ELU. Na segunda matriz, tal componente está associada a estações com maior diversidade, equitatividade e alta ocorrência de polychaeta, contrastando com echinodermata.
- (ii) Já o componente 2 (PC2) explica 12,02% das variâncias, onde sedimentos finos estão correlacionados positivamente enquanto que profundidade e toxicidade para AI e ELU estão correlacionados negativamente. Na segunda matriz, correlações positivas do número e espécies, indivíduos e diversidade indicam uma influência da toxicidade

(correlacionada negativamente no matriz 1) sobre esses descritores.

- (iii) Por fim o componente 3 explica 6,40% das variâncias e na matriz 1 apenas as concentrações de LAB estão correlacionadas positivamente, enquanto que na segunda matriz a ocorrência de Nematoda, apresentou correlação negativa.

A ordenação do tipo bi-dimensional dos dois primeiros componentes (Axis 1 e 2, respectivamente) as estações foram agrupadas em três conjuntos distintos: (1) o primeiro composto pelas estações M2, M3, M4 e M6, caracterizadas por uma maior contribuição das variáveis do PC1 correlacionadas negativamente; (2) o segundo que inclui as estações M1, M5 e M7 onde as associações positivas do componente 2 foram significativas e (3), que inclui as estações M8, M9 e M10, onde as associações positivas do componente 1 foram mais significativas (Figura 6).

Já o resultado da integração das linhas de evidência através da tríade da qualidade de sedimentos utilizando o RTMe é apresentado na Figura 7. De modo geral, a contaminação e a toxicidade influenciaram mais na classificação das estações. Para as estações M9 e M10 o baixo numero de espécies, indivíduos e ocorrência dos principais grupos, geraram um alto índice de degradação da comunidade bentônica em relação às outras linhas de evidências. No entanto, os três índices combinados geraram a seguinte gradiente do grau de degradação da qualidade dos sedimentos das estações: $M9 < M8 < M5 < M10 < M7 < M1 < M6 < M3 < M2 < M4$. Comparando estes resultados com a ordenação do tipo bi-dimensional da PCA é possível observar uma concordância entre os resultados encontrados, exceto para M10, o que corrobora caracterização da qualidade dos sedimentos da região apresentados.

Tabela 3 – Resultado da análise de componentes principais (PCA) com 2 matrizes e correlações de Pearson das variáveis a cada componente. correlações em negrito.

Variáveis	Matriz 1			Bentos	Matriz 2		
	PC1	PC2	PC3		PC1	PC2	PC3
Profundidade	-0,41	-0,81	-0,02	Espécies	-0,39	0,70	0,06
Cascalho	0,49	-0,40	-0,02	Indivíduos	-0,15	0,79	0,18
Finos	-0,65	0,52	-0,06	Equitatividade	-0,65	0,34	0,22
CaCO ₃	-0,96	-0,14	0,13	Diversidade	-0,52	0,61	0,09
TOC	-0,97	-0,12	-0,02	Polychaeta	-0,90	0,26	0,26
P	-0,65	0,11	0,37	Mollusca	0,12	0,29	-0,16
Al	-0,97	0,12	0,12	Crustacea	0,45	0,19	-0,22
Fe	-0,98	0,07	0,04	Nematoda	0,01	0,16	-0,56
Hg	-0,70	0,23	0,47	Echinodermata	0,81	-0,40	-0,10
Cd	-0,79	-0,06	-0,31				
Cr	-0,97	-0,01	0,15				
Cu	-0,98	0,02	0,00				
Ni	-0,96	-0,05	0,04				
Pb	-0,83	-0,15	-0,49				
Zn	-0,99	0,04	0,02				
AH	-0,82	0,21	-0,23				
HPA	-0,93	0,03	-0,25				
LAB	-0,48	-0,41	0,61				
SI	-0,81	0,31	-0,32				
AI	-0,14	-0,92	-0,09				
ISA	-0,94	0,10	0,19	Variância (%)	66,46	12,02	6,40
ELU	-0,81	-0,50	-0,14	Variância total (%)	66,46	78,48	84,88

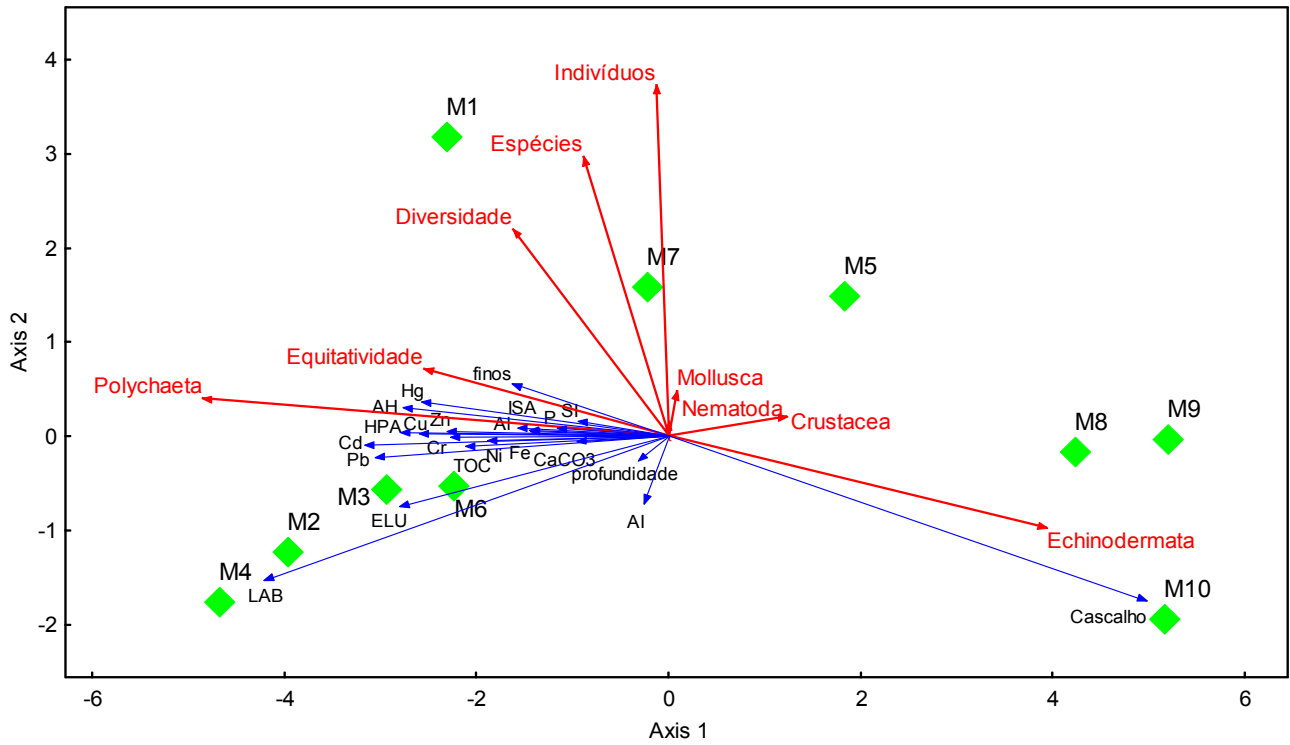


Figura 6 - ordenação do tipo bi-dimensional dos componentes 1 e 2 da PCA

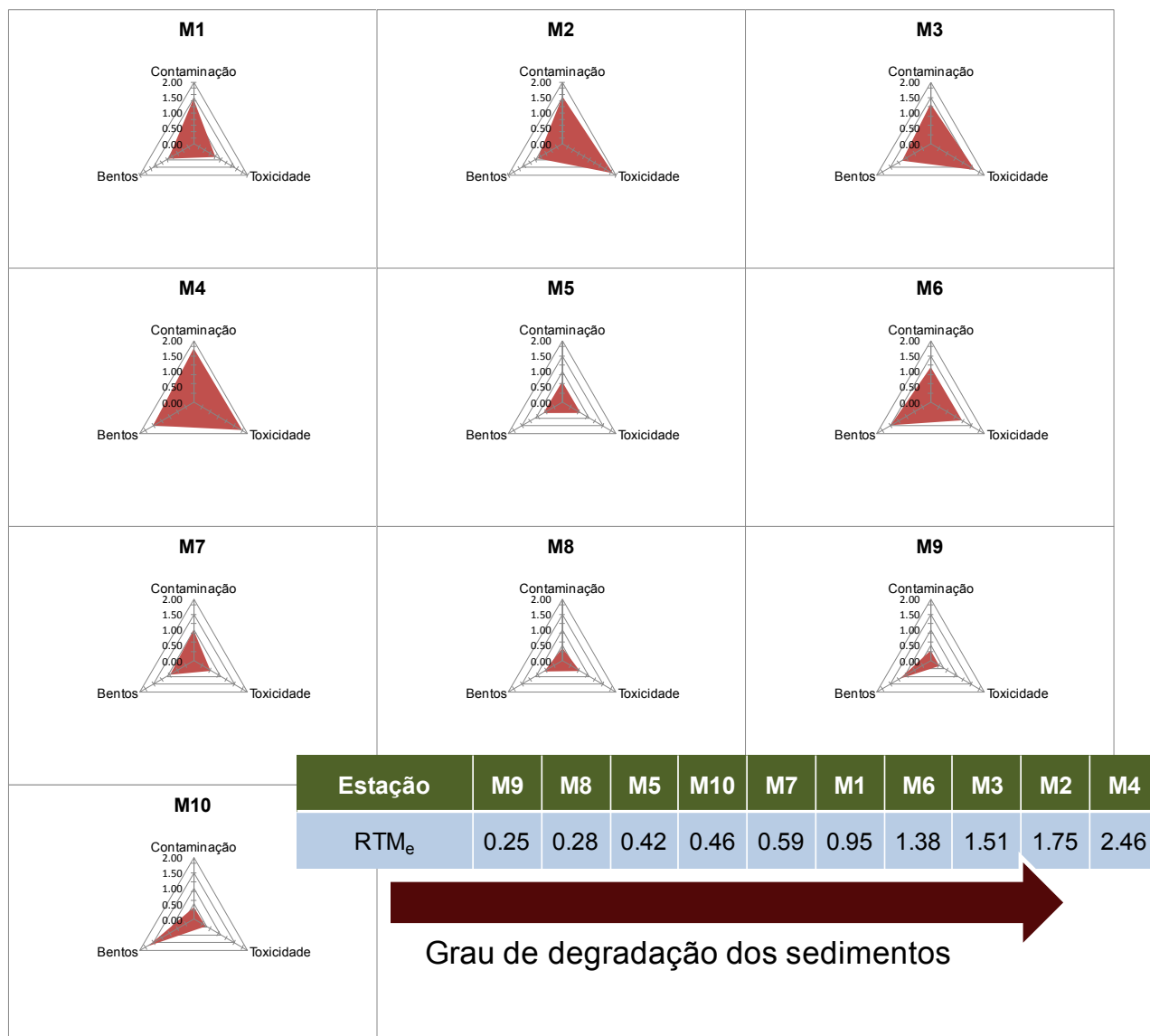


Figura 7 – Valores RTMes calculados para as amostras do Porto do Mucuripe.

4. Discussão

Na região do Porto do Mucuripe, durante a implementação das estruturas portuárias, aspectos da hidrodinâmica costeira não foram devidamente avaliados de modo que impactos sobre o balanço sedimentar foram observados a cerca de 20 km de Fortaleza (Bezerra *et al.* 2007). A construção do quebra-mar promoveu a alteração do transporte de sedimentos, que ocorre no sentido leste-oeste, criando zonas de deposição na área abrigada (Maia *et al.*, 1998). Este processo explica a distribuição dos teores elevados de sedimentos finos, CaCO_3 e MO nas estações de M1 a M7. Estes teores corroboram com descrição das fácies sedimentares da região, que possui uma composição de 0,2 a 95% de carbonatos biogênicos e níveis de matéria orgânica variando de 0,76 a 38,9% (Freire *et al.*, 2004; Lacerda & Marins, 2006; Marques *et al.*, 2008; Nascimento *et al.*, 2010). Considerando essa alteração nos processos hidrodinâmicos, é possível que essa zona de “abrigo” das correntes também influencie na dispersão de compostos lançados próximos a costa, comprometendo não apenas a qualidade das águas da região com o aumento da concentração de contaminantes, que por sua vez podem atingir os sedimentos.

Os valores de COT variaram entre 0,16 e 1,43%, com as maiores concentrações ocorrendo junto com sedimentos finos. O carbono na sua forma orgânica é um dos principais constituintes da matéria orgânica em sedimentos. Já o P foi detectado acima de 0,20% nos sedimentos das estações de M1 a M7, valores próximos aos reportados por Marins *et al.* (2007) para a região da foz do Rio Jaguaribe (0,32 e 0,33%) e estes valores podem estar associados a atividades antrópicas como lançamento de esgotos e efluentes (Siqueira *et al.* 2006).

Em relação aos metais, os processos de intemperismo físico e químico formam uma série de materiais sedimentares tais como minerais de silicato, quartzo, feldspato, mica e argilas, óxidos de metais e sulfetos que constituem origem das concentrações naturais (Carvalho *et al.*, 2002) enquanto que as atividades antrópicas por meio dos lançamentos pontuais e difusos também

influenciam na distribuição dos elementos. Efluentes industriais, hospitalares e domésticos além do escoamento urbano superficial contêm substâncias oriundas de tintas, pesticidas, fármacos, detergentes, óleo e derivados, baterias e plásticos que representam as principais fontes de contaminação por metais na zona costeira (Petrovic *et al.*, 2003; Marins *et al.*, 2004). Além disso, em regiões com intensa atividade náutica, tais como portos e marinas, o tráfego e ancoragem de embarcações bem como atividades de limpeza dos cascos, promovem o a liberação de metais presentes em tintas anti-incrustante e nos próprios cascos (constituídos de liga metálica) para o ecossistema aquático (Yetreberg *et al.* 2010; Biggs & D'Anna, 2012).

A Tabela 4 apresenta as concentrações de metais em diferentes regiões portuárias e nela é possível observar que as concentrações de Hg, Cd, Cu, Ni e Zn encontradas no Porto do Mucuripe são similares às aquelas encontradas nos portos de outros países como Victoria (China), Rotterdam (Holanda), Montevideo (Uruguai) e Barcelona (Espanha) e também em portos do Brasil como Paranaguá (PR) e Santos (SP).

Compostos orgânicos como os AH e HPA são frequentemente encontrados em altas concentrações em regiões portuárias (Medeiros & Bicego 2004, 2007; Bicego *et al.*, 2006; Silva & Bicego, 2010). Entre as suas principais fontes de emissão estão as atividades industriais por meio de efluentes e emissões atmosféricas, queima de combustível fóssil por veículos automotores (incluindo embarcações), escoamento superficial e deposição atmosférica (Liu *et al.*, 2005; Cavalcante *et al.*, 2009). Já os LAB são subprodutos do alquilbenzeno linear sulfonato (LAS) que é um tensoativo aniônico usado em detergentes, lançados no ambiente desde 1960 e agora são utilizados como marcadores de esgoto no ambiente marinho (Martins *et al.* 2010).

No presente estudo, as concentrações tanto de AH como de HPA podem ser consideradas baixas quando comparadas com concentrações de áreas contaminadas tanto das regiões Sul e Sudeste como o Porto de Santos, Baía de Guanabara e Lagoa dos Patos, como também as áreas de intensa ocupação urbana e industrial na região nordeste, como a Baía de Todos os Santos (Tabela 5). No entanto, a ocorrência das maiores concentrações nas estações de M1 a M7 corroboram a hipótese de que as zonas abrigadas do porto promovem não só a deposição de sedimentos finos, mas também a deposição destes compostos.

Tabela 4 - Concentrações de metais em $\mu\text{g g}^{-1}$ em diferentes regiões portuárias.

Local	Hg	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	Autor
Victoria Harbor	-	2,61-3,33	57,5-601,2	45-3789,5	23,6-177,1	47,4-138,1	97,9-610,4	A
Porto de Rotterdam	<0,2-0,8	<0,5-1,8	-	<5-40	<5-20	<10-60	15-190	B
Porto de Montevideo	0,6-1,3	<1,0-1,6	79-253	59-135	26-34	44-128	174-491	C
Porto de Barcelona	-	4-1,4	45-95	70-195	18-27	85-130	180-300	D
Porto de Ceuta	-	-	13-381	5-865	8-671	10-516	29-695	E
Porto de Santos	< 0,03 – 0,92	< 0,50 – 1,49	< 5,0 – 97,5	-	1,3-44,2	< 2,0-204,8	6,0-312,0	F
Sistema Estuarino de Vitória	0,03-0,82	-	35-280	5-660	6-245	5-292	27-812	G
Sistema Estuarino de Paranaguá	-	<0,001	14,50-58,00	<0,04-16,20	6,65-21,90	<0,30-29,75	26,95-80,50	H
Porto do Mucuripe	<0,03-0,04	<0,60-1,41	3,33-50,13	<0-16,76	<2,00-21,49	<2,00-3,58	25,03-583,51	I

A - Wong *et al.* (1995); B - Van DenHurk *et al.* (1997); C - Muniz *et al.* (2004); D – Guevara-Riba *et al.* (2004); E - Guerra-García & García-Gómez (2005); F Hortellani *et al.* (2008); G - Jesus *et al.*(2004); H - Choueri *et al.* (2009b); I – Presente estudo.

Tabela 5 – Distribuição de hidrocarbonetos em sedimentos de diferentes regiões do Litoral do Brasil.

	Local	ΣAH ($\mu g g^{-1}$)	$\Sigma LABs$ ($ng g^{-1}$)	ΣHPA ($ng g^{-1}$)	Autor
Nordeste	Porto do Mucuripe	0,34-25,36	1,35-5,84	27,95-107,78	A
	Mundaú–Manguaba	28,7-139,5	-	29,2 - 222,7	B
	Bacia Potiguar	0,01–5,0	-	0,5–10	C
	Rio Ceará	-	-	3,04-2234,76	D
	Rio Cocó	-	-	3,34-1859,21	D
	Baía de Todos os Santos	-	-	42-4187	E
Sul/Sudeste	Lagoa dos Patos	1,1-129,6	3,2-1601,9	37,7-11779,9	F
	Baía de Guaratuba	-	-	10,5-349	G
	Baía das Laranjeiras	0,28-8,19	-	3,85-89,1	H
	Porto de Santos	0,17 - 2508	16,9- 430,6	22,6–68130	I,J
	Canal de São Sebastião	0,04-8,53	12,6-27,7	2,9-370	K
	Angra dos Reis	14,5-464,9	-	6,3-2,77	L
	Baía de Guanabara	0,81- 21260,44	-	96-153316,0	M

A – Este estudo; B- Silva *et al.* (2012); C- Wagener *et al.* (2011); D - Cavalcante *et al.* (2009); E – Wagener (2010); F - Medeiros *et al.* (2005); G - Pietzsch *et al.* (2010); H - Martins *et al.* (2012); I - Medeiros & Bicego (2004); J - Bicego *et al.* (2006); K - Medeiros & Bicego (2007); L - Azevedo *et al.* (2007); M - Wagener *et al.* (2012).

Em relação a toxicidade, as amostras de M1 a M7 foram tóxicas para o sedimento integral, e nas condições do ensaio, os anfípodos são diretamente expostos aos contaminantes associados às partículas de sedimento e a água intersticial e portanto estes efeitos tóxicos podem ser resultados da mistura dos contaminantes pela exposição via superfície corpórea, respiratória e também pela ingestão (Kennedy *et al.*, 2009; Burton & Johnston 2010).

Já no teste com água intersticial, todas as amostras foram tóxicas a 100% mas nessas diluições os níveis de amônia não ionizada estiveram acima do limiar de efeito o que indica uma contribuição deste composto para o efeito encontrado, sendo considerado um interferente natural (Melo & Nipper, 2007). Com isso, o uso das diluições teve como objetivo a redução dessa interferência no ensaio e nesse caso, para as amostras M1, M5 e M7 é provável que contaminantes dissolvidos nessa fase líquida possam ter contribuído também para os efeitos tóxicos. De acordo com Camargo & Alonso (2006), a interação da amônia com o Cu, Zn, cloretos e fenóis podem resultar em efeitos sinérgicos potencializando o efeito tóxico. Além disso, é importante salientar que em ambientes anóxicos e ricos em matéria orgânica, os processos de

transformação da matéria orgânica a atividade bacteriana promove a formação de amônia, mas em ambientes contaminados, esse composto possui também a fonte de origem associada a atividades antrópicas como o lançamento de efluentes industriais e esgoto (Losso *et al.*, 2007).

No teste de toxicidade da interface sedimento-água, baixos índices de desenvolvimento larval foram observados nas amostras de M1 a M7, sugerindo a transferência de compostos do sedimento para a coluna d'água adjacente e determinando o risco de efeito sobre os organismos epibentônicos e planctônicos. Wauhob *et al.* (2007), observaram a transferência dos metais Cd, Cu e Al, além de compostos orgânicos como pesticidas, dos sedimentos para a interface sedimento-água nas câmaras testes, determinando efeitos sobre o desenvolvimento das larvas de ouriço-do-mar *Arbacia punctulata* e sobre a reprodução do copépodo *Schizopera knabeni* expostos a amostras de sedimentos da Baía de Corpus Christi, no Texas (EUA). Já Cesar (2003) ao avaliar a contaminação por metais dos sedimentos da Baía de Portman (Espanha), observou toxicidade na interface sedimento-água para larvas dos ouriços do mar *Arbacia lixula* e *Paracentrotus lividus*, associada a concentrações de Zn, Pb, Al e Fe. Portanto, os efeitos observados neste estudo possivelmente foram causados por essa transferência de contaminantes na camara-teste.

Os elutriatos apresentaram toxicidade apenas para as M2, M3, M4 e M6 e considerando que nessa forma de exposição é feita uma diluição dos e posterior ressuspensão, pode-se dizer que a transferência/mobilização de compostos na proporção avaliada 1:4 (sedimento/água) é baixa e ainda assim capaz produzir efeitos tóxicos e que nas operações de dragagens, elutriatos mais concentrados são produzidos. Torres *et al.* (2009) ao avaliar a composição do *overflow* das dragas que operam no aprofundamento do canal do Porto de Santos, observou um aumento significativo dos teores de metais e de compostos orgânicos (HPA) no material do interior da draga, em relação ao sedimento do local de coleta, antes da operação.

Dentre os fatores naturais a granulometria, é considerada um dos principais controladores das comunidades bentônicas. Fresi *et al.* (1983)

salientam que sedimentos heterogêneos formam uma variedade de habitats, o que possibilita o assentamento de grande número de organismos, criando um ambiente de grande diversidade. Conforme discutido anteriormente, a composição granulométrica na zona abrigada do Porto do Mucuripe é influenciada pelos processos de deposição de sedimentos finos e pela existência do canal de navegação, ambos em função da estrutura do quebra-mar. No presente estudo, as amostras que apresentaram os melhores índices para os descritores da comunidade foram as amostras de M1 a M8, que apresentaram sedimentos contendo mistura de areia e finos. Já para as amostras M9 e M10, é provável que o alto hidrodinamismo em função da zona de quebra de correntes, caracterizado pela textura dos sedimentos grosseiros (cascalho em M10) seja um fator limitante para a colonização dos substratos na região.

Já analisando a composição da comunidade bentônica é possível observar a ocorrência da bolacha-do-mar *M. quinquiesperforata* em M8 a M10 e também de anfípodos Gammarídeos em M8 e M9. Para as outras estações o grupo mais abundante foi Polychaeta. Equinodermos e anfípodos bentônicos são grupos sensíveis a contaminantes e são considerados indicadores de boa qualidade ambiental, pois são os primeiros a desaparecer em áreas poluídas, enquanto que muitos grupos de poliquetos são oportunistas e pouco sensíveis, os quais frequentemente são abundantes em condições favoráveis a proliferação, como, por exemplo, em áreas contaminadas e enriquecidas organicamente (Long *et al.* 2001; Dauvin & Ruellet, 2007). Com isso, as estações de M1 a M6 apresentaram alta densidade de poliquetos, predominando sobre os outros grupos, o que pode ser interpretado como um indicador de mudança na composição da comunidade bentônica.

Na Praia do Futuro, região adjacente ao Porto, Rocha-Barreira *et al.* (2001) reportam uma comunidade bentônica composta por Polychaeta, Mollusca e Crustacea, com a ocorrência da *M. quinquiesperforata*. Porém é importante salientar que a contaminação e a toxicidade também podem contribuir para a distribuição das espécies, uma vez que em regiões contaminadas espécies tolerantes e/ou oportunistas tem a capacidade de se

reproduzir em altas taxas, levando a colonização dos habitats (Hartwell & Hameedi, 2006), o que explica a abundância dos poliquetos *Prionospio pinnata* e *Magelona posterolongata*.

5. Conclusões

Na integração dos resultados através da PCA, os níveis de contaminação (exceto LAB) estiveram correlacionados com os sedimentos finos e matéria orgânica, e estes sedimentos, associados com os efeitos biológicos observados, em especial a toxicidade do sedimento integral, interface sedimento-água e elutriatos. Em áreas portuárias tais componentes dos sedimentos constituem os principais carreadores geoquímicos de contaminantes, controlando a sua biodisponibilidade de acordo com as condições do meio (Langston & Pope, 1995; Burgess & Kester 2002; McGee *et al.*, 2009; Mzoughi & Chouba, 2011) e dessa forma a ocorrência dessa mistura de contaminantes explica a toxicidade para os sedimentos efetivamente tóxicos.

Para os efeitos sobre a comunidade estes sedimentos estiveram correlacionados com a diversidade, equitatividade e densidade de poliquetos. Com isso, é possível concluir que na região do Porto do Mucuripe a distribuição das espécies bentônicas é condicionada pela granulometria, com uma contribuição também da contaminação e da toxicidade, uma vez que há a mudança na composição das espécies em relação a região a montante do quebra-mar .

Já a integração através da tríade da qualidade dos sedimentos usando os valores RTMe foi importante para classificar as estações, identificando as áreas de pior qualidade em relação aos valores médios dos parâmetros analisados, conforme os estudos de Abessa *et al.*,(2008) e Cesar *et al.* (2009), que utilizaram abordagem similar para identificar áreas críticas de contaminação de sedimentos do sistema estuarino de Santos-São Vicente, além da Baía de Santos.

Por fim, baseado nestes resultados, a Tabela 6 sumariza os resultados das três linhas de evidência empregadas de acordo as tabelas de decisão

proposta por Chapman (1996) para a TQS com as respectivas conclusões para cada estação. As estações de M1 a M7 apresentaram evidência de poluição induzida por contaminantes (em especial os metais Cd, Ni e Zn além do HPAs), porém efeitos *in situ* sobre o número de espécies e indivíduos da comunidade bentônica não foram observados, ao passo que a composição das espécies mostra a ocorrência de poliquetos oportunistas, o que indica certo grau de degradação ambiental. Para estas estações, o uso de outras abordagens e linhas de evidência adicionais como exposição *in situ*, estudo de biomarcadores e bioacumulação pode ajudar nas investigações das relações de causa e efeito dos contaminantes, bem como na tomada de decisão nas ações de gestão de sedimentos contaminados (Chapman & Hollert, 2006; Chapman, 2007).

Tabela 6 – Conclusões nos resultados das três linhas de evidência empregadas para as amostras do Porto do Mucuripe.

Estação	Análises químicas ^a	Toxicidade ^b	Alteração no Bentos ^c	Conclusão
M1	+	+	+	Evidência de poluição induzida pelos contaminantes
M2	+	+	+	Evidência de poluição induzida pelos contaminantes
M3	+	+	+	Evidência de poluição induzida pelos contaminantes
M4	+	+	+	Evidência de poluição induzida pelos contaminantes
M5	+	+	-	Evidência de poluição induzida pelos contaminantes
M6	+	+	+	Evidência de poluição induzida pelos contaminantes
M7	+	+	+	Evidência de poluição induzida pelos contaminantes
M8	-	-	-	Boa qualidade dos sedimentos - ausência de contaminação
M9	-	-	+	Alteração associada a fatores naturais (granulometria)
M10	-	-	+	Alteração associada a fatores naturais (granulometria)

a – concentração de contaminantes acima do Nível 1; b - Toxicidade em dois ou mais testes de toxicidade; c – baixo número de indivíduos e espécies.

CAPÍTULO 2: Respostas de biomarcadores em *Anomalocardia brasiliiana* expostas a sedimentos e material dragado no Porto do Mucuripe.

1. Introdução

Os sedimentos têm sido considerados como destino final de grande parte dos materiais transportados no ambiente marinho, incluindo os contaminantes. As avaliações da qualidade dos sedimentos têm avançado significativamente com a utilização de abordagens integradas baseadas no uso de múltiplas linhas de evidência, que visam determinar impactos ecológicos de estressores (Chapman, 2007). Dentre tais abordagens, a tríade da qualidade dos sedimentos utiliza os aspectos químicos, ecotoxicológicos e ecológicos (estrutura da comunidade bentônica), constituindo assim a base das avaliações de risco ecológico de sedimentos e material dragado, e fornecendo também subsídios para o desenvolvimento de critérios e valores-guias de qualidade de sedimento (DeValls & Chapman, 1998; Wenning *et al.*, 2005; Chapman & Smith, 2012).

Porém, em muitos casos existem incertezas para estabelecer relações de causa-efeito entre os estressores (contaminantes) e biota, que são fundamentais para as ações de gestão e proteção dos ecossistemas (Burton & Johnston, 2010). Além disso, nos procedimentos laboratoriais (análises químicas e testes ecotoxicológicos), embora haja um grande controle das condições experimentais, a manipulação das amostras pode alterar as propriedades da matriz analisada, levando a perdas de representatividade dos efeitos avaliados (Burton *et al.* 2005). Recentemente, Chapman & Hollert (2006) discutiram essas limitações, propondo a incorporação de outras linhas de evidência dentro das avaliações integradas de sedimentos, como o estudo de biomarcadores e a utilização de sistemas de exposição *in situ*, entre outras, de forma a auxiliar a identificação e caracterização dos riscos.

No caso dos testes de toxicidade, é avaliada a resposta do organismo-teste exposto ao sedimento em questão sob condições controladas, onde os

efeitos são observados através da mortalidade para determinar a toxicidade aguda e também parâmetros sub-letais como crescimento, mobilidade, desenvolvimento larval ou taxa de reprodução para determinação dos efeitos crônicos. Tais efeitos muitas vezes estão associados à exposição em níveis de organização biológica com alta complexidade (como em populações e comunidades) ou em situações onde o dano é irreversível (Van Gestel & Van Brummelen, 1996).

Os biomarcadores são alterações nas respostas biológicas em nível de sub-organismo, variando desde níveis moleculares, celulares e fisiológicos até alterações comportamentais, e que podem estar relacionadas com a exposição a contaminantes ou outros agentes estressores (Peakall, 1994). Posteriormente os termos biomarcadores, bioindicadores e indicadores ecológicos foram redefinidos por Van Gestel & Van Brummelen (1996) no sentido de conectá-los com seus respectivos níveis de organização ecológica e dessa forma os biomarcadores foram considerados como respostas biológicas a qualquer composto químico no ambiente em nível de sub-indivíduo, medidas no próprio organismo ou nos seus produtos (exemplo: urina, fezes, cabelos, penas) e que indicam uma variação do *status* normal. Já os bioindicadores são organismos que fornecem informações das condições ambientais ou do seu habitat pela sua presença, ausência ou comportamento e os indicadores ecológicos são definidos como parâmetros de ecossistema que descrevem a sua estrutura e funcionamento (Van Gestel & Van Brummelen, 1996; Martín-Díaz *et al.*, 2004).

A partir dessa definição, os biomarcadores podem ser divididos em: (1) Biomarcadores de exposição, que consistem na detecção de substâncias exógenas e/ou seus metabólitos, e também o produto da interação de um xenobiótico (contaminante) com moléculas-alvo ou células medidas no organismo; (2) Biomarcadores de efeito, que incluem medidas bioquímicas, fisiológicas ou quaisquer alterações em tecidos ou fluidos corporais de um organismo, associadas com o comprometimento do estado de saúde ou doença, e (3) Biomarcadores susceptibilidade, que correspondem à capacidade inerente ou adquirida de um organismo para responder a exposição aos

xenobióticos, incluindo fatores genéticos e danos nos receptores que alteram a sensibilidade a essa exposição (NCR, 1987; WHO, 2001).

Nos estudos que utilizam os biomarcadores como linhas de evidência da qualidade de ecossistemas aquáticos, geralmente são avaliadas respostas bioquímicas através do monitoramento da atividade enzimática de vias de detoxificação, que podem ser divididas em: (1) Fase I (biotransformação) e (2) Fase II (conjugação). A Fase 1 consiste na biotransformação dos contaminantes através de reações oxidativas, catalisadas pelo sistema oxigenase de função mista (MFO) que inclui o grupo de enzimas denominado Citocromo P450 (CYP), capaz de atuar sobre a oxidação de compostos orgânicos (Stegeman & Livingstone 1998; Van der Oost *et al.*, 2003). Já a Fase 2 consiste basicamente na atividade de enzimas como a Glutathione-S-Transferase (GST), que atua sobre a conjugação de compostos modificados pelo mecanismos de biotransformação (Fase 1) com a glutathione reduzida, facilitando a sua dissolução em meio aquoso, visando a sua excreção (Schlenk *et al.*, 2008).

Além das vias de detoxificação, outros mecanismos importantes para compreensão da toxicidade são aqueles associados ao sistema de defesa antioxidante, que atuam sobre o estresse oxidativo que por sua vez pode ser induzido pela exposição aos contaminantes, resultando na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) como ânion radical superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Di Giulio & Meyer, 2008). Em situações onde os mecanismos de defesa são sobrepostos pelos mecanismos pró-oxidantes (geração de ROS) o estresse oxidativo pode induzir efeitos como a inativação enzimática, a peroxidação lipídica e danos em DNA (Cheung *et al.*, 2001).

No caso da peroxidação lipídica, os ácidos graxos poliinsaturados, importantes componentes estruturais das membranas celulares e organelas, fundamentais para o funcionamento celular são comprometidos por meio de reações induzidas pelas ROS, modificando sua estrutura e comportamento químico (Janero, 1990; Di Giulio & Meyer, 2008). Já em relação ao DNA, além dos danos promovidos pelo estresse oxidativo, os contaminantes

(principalmente compostos orgânicos) têm um grande potencial genotóxico, gerando danos à integridade do DNA e levando à instabilidade (e quebra) das fitas da molécula (*strand breaks*); de modo que o acúmulo de danos no interior da célula na ausência de mecanismos de reparos pode levar a célula a apoptose (Everaarts, 1995; Cory & Adams, 2002).

De acordo com Martín-Díaz *et al.* (2004), os biomarcadores têm sido cada vez mais empregados em estudos ambientais como avaliações de sedimentos e material dragado em conjunto com às análises químicas. De acordo com os autores nessas avaliações os protocolos contemplam a determinação de efeitos biológicos apenas através de ensaios de toxicidade, que medem os efeitos em altos níveis de organização biológica, e são pouco sensíveis comparados aos biomarcadores em relação a detecção da manifestação dos primeiros efeitos tóxicos ao longo do tempo de exposição (Van Gestel & Van Brummelen, 1996). Com isso, os biomarcadores podem auxiliar no entendimento dos mecanismos de ação da toxicidade, aumentando a certeza em torno do papel dos contaminantes como estressores e a causalidade sobre os feitos observados.

Nesse sentido, esta etapa do estudo tem como objetivo principal a avaliação das respostas de biomarcadores de forma integrada e complementar a caracterização química e toxicidade dos sedimentos do Porto do Mucuripe, durante as operações de dragagem dos sedimentos da região. Para isso, foi empregada uma bateria de análises de biomarcadores proposta por Martín-Díaz *et al.* (2004) que inclui a atividade de enzimas de fase 1 e 2, estresse oxidativo, danos em DNA e peroxidação lipídica como biomarcadores de efeito em moluscos bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* expostos no campo (*in situ*) e em laboratório.

2. Materiais e métodos.

2.1. Organismo alvo

No presente estudo foi utilizada como organismo alvo a espécie *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791), molusco bivalve lamelibrânquio da família Veneridae popularmente conhecido como “berbigão” na região NE do Brasil. Espécie bentônica representante da infauna, é geralmente encontrada a até 5 cm de profundidade nos bancos de sedimentos. Esta espécie não apresenta dimorfismo sexual e sob os aspectos básicos da sua biologia, é uma espécie euritérmica e eurihalina, tendo grande resistência às condições de anóxia e hipóxia, características estas que facilitam seu manejo durante coleta e transporte. Além disso, a sua alimentação ocorre através da filtração de partículas retidas nas brânquias (Narchi 1972; Araujo, 2004). Dada a sua importância ecológica, a espécie *A. brasiliana* também compõe a dieta de comunidades pesqueiras e é explorada comercialmente.

Os espécimes de *A. brasiliana* foram coletados manualmente e com o auxílio de uma pá quando preciso, na zona entre marés em bancos de sedimentos na praia da Requenguela (9482282,69 S, 684441,50 W), no município de Icapuí, litoral leste do Ceará (Figura 1). Sobre a escolha do local de coleta dos organismos, além da abundância da espécie, a região também foi escolhida como referência em função da ausência de fontes de contaminação significativas/relevantes, além da baixa ocupação e urbanização. Após a coleta, os animais foram transportados em caixas térmicas até o Laboratório de Ecotoxicologia marinha do LABOMAR-UFC onde foram aclimatados em aquários contendo água do mar limpa (livre de contaminantes) com salinidade 35 e aeração (Figura 2) e mantidos até o momento do transplante para exposição em campo e realização dos bioensaios de exposição em laboratório.

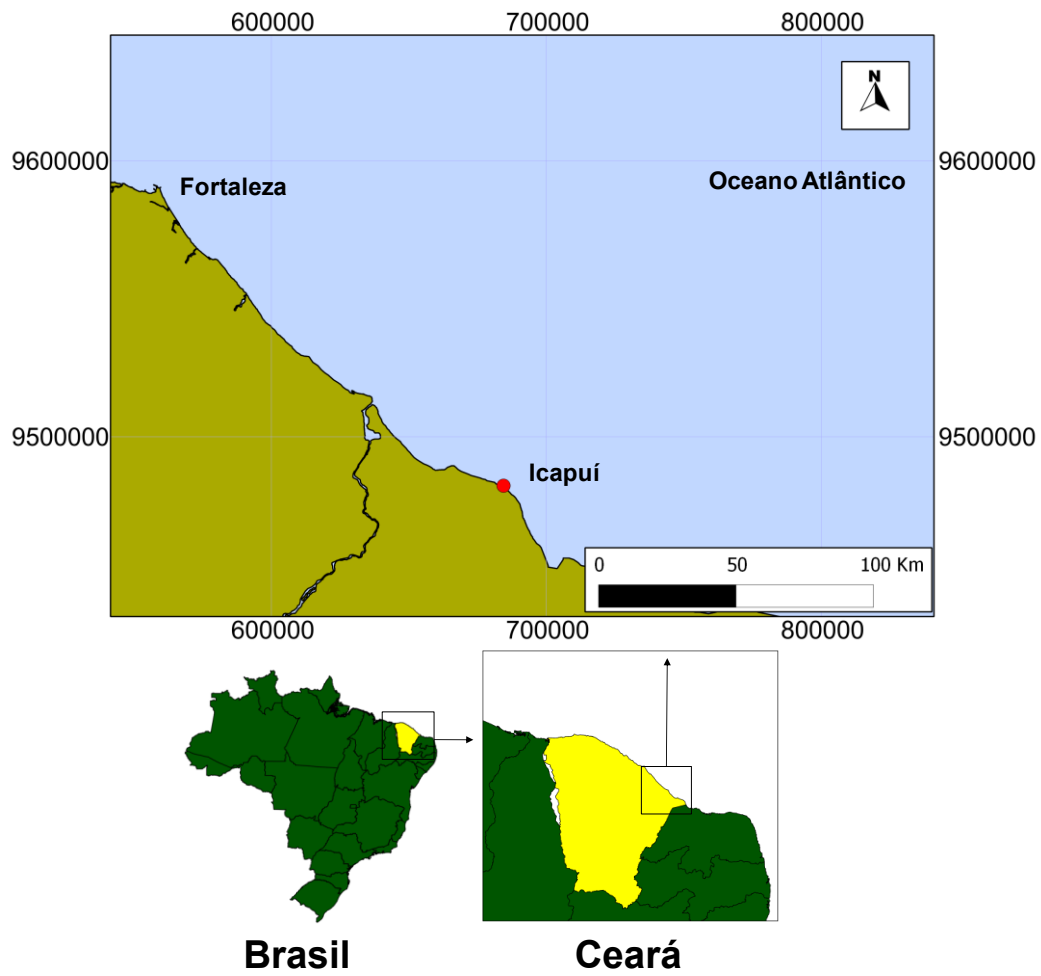


Figura 1 – Localização da praia da Requenguela no município de Icapuí, CE, Brasil.

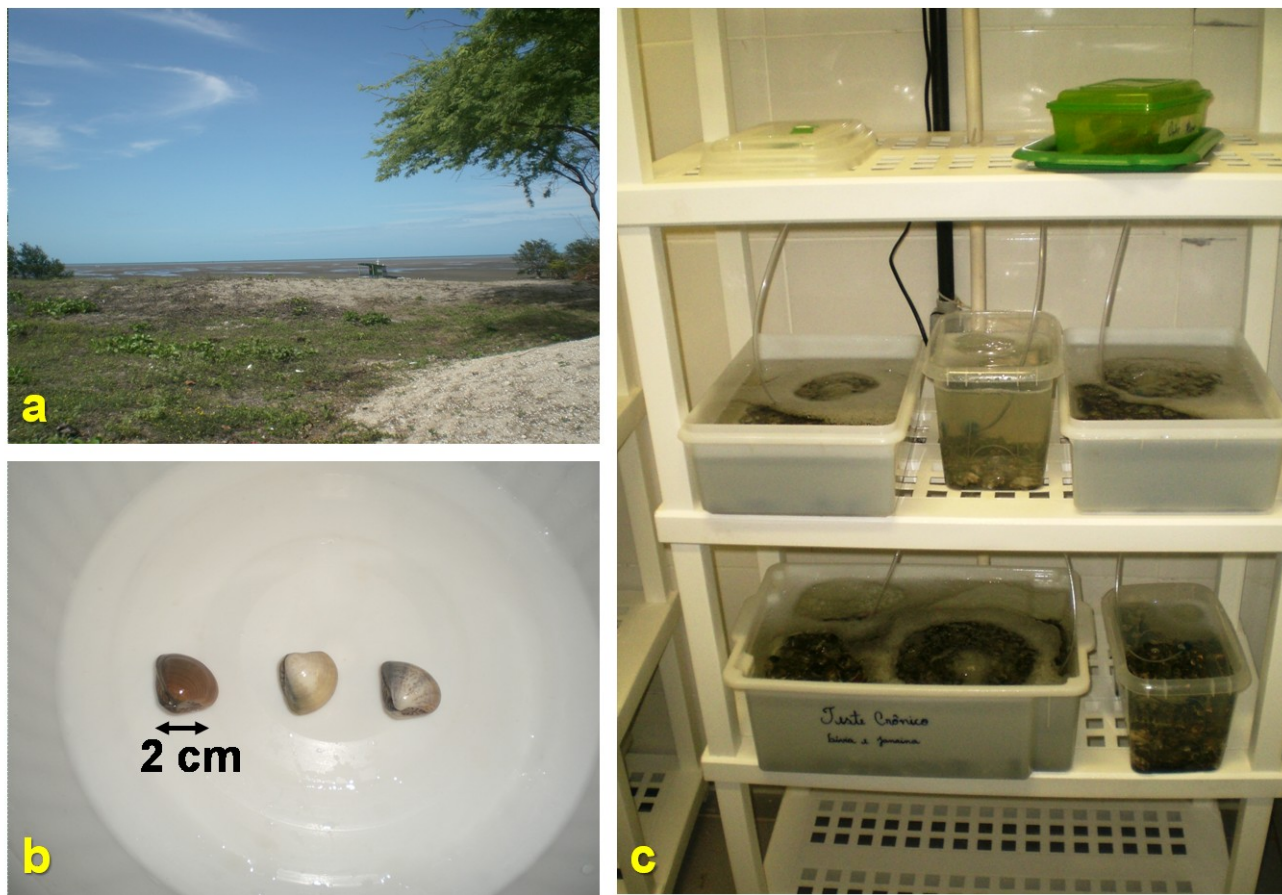


Figura 2 – Organismo alvo utilizado no estudo. Onde a = local de coleta na praia da Requenguela; b = *A. brasiliensis*; c = aclimação dos organismos em laboratório.

2.2. Estações de coleta e formas de exposição.

Conforme já mencionado, no presente estudo foram adotadas duas estratégias de exposição, em campo e em laboratório. Para isso, foram determinadas 3 estações de coleta e/ou exposição: MD1, no cais comercial e onde são lançados os efluentes da LUBNOR; MD2, localizada próxima ao píer petroleiro e MD3, na bóia de sinalização da entrada do canal de navegação do porto e fora da área abrigada (Figura 3). As campanhas de coletas e exposição foram realizadas em dois períodos distintos, sendo o primeiro entre 27 de dezembro de 2010 a 24 de janeiro de 2011, durante as atividades de dragagem iniciadas em setembro de 2010. Já a segunda campanha foi realizada entre 01 a 28 de julho de 2011, ao final das operações de dragagem.

No sistema de exposição em campo, moluscos bivalves da espécie *A. brasiliiana* coletados na praia da Requenguela foram transplantados para as estações de coleta e exposição em lanternas de cultivo de ostras fixadas em cordas presas a uma poita na estação MD1, amarradas em um dos pilares de sustentação do píer petroleiro em MD2 e presas a corrente de poita da bóia de sinalização em MD3 (Figura 4). Em cada estação foram transplantadas 4 lanternas contendo 30 organismos cada, posicionadas na interface sedimento-água. O tempo total de exposição foi de 28 dias e foram feitas retiradas de uma gaiola a cada 7 dias, constituindo tempos de resposta para avaliação da cinética dos efeitos. Após a retirada, os organismos foram mantidos em água do mar limpa e filtrada por um período de 6-8h para posterior processamento.

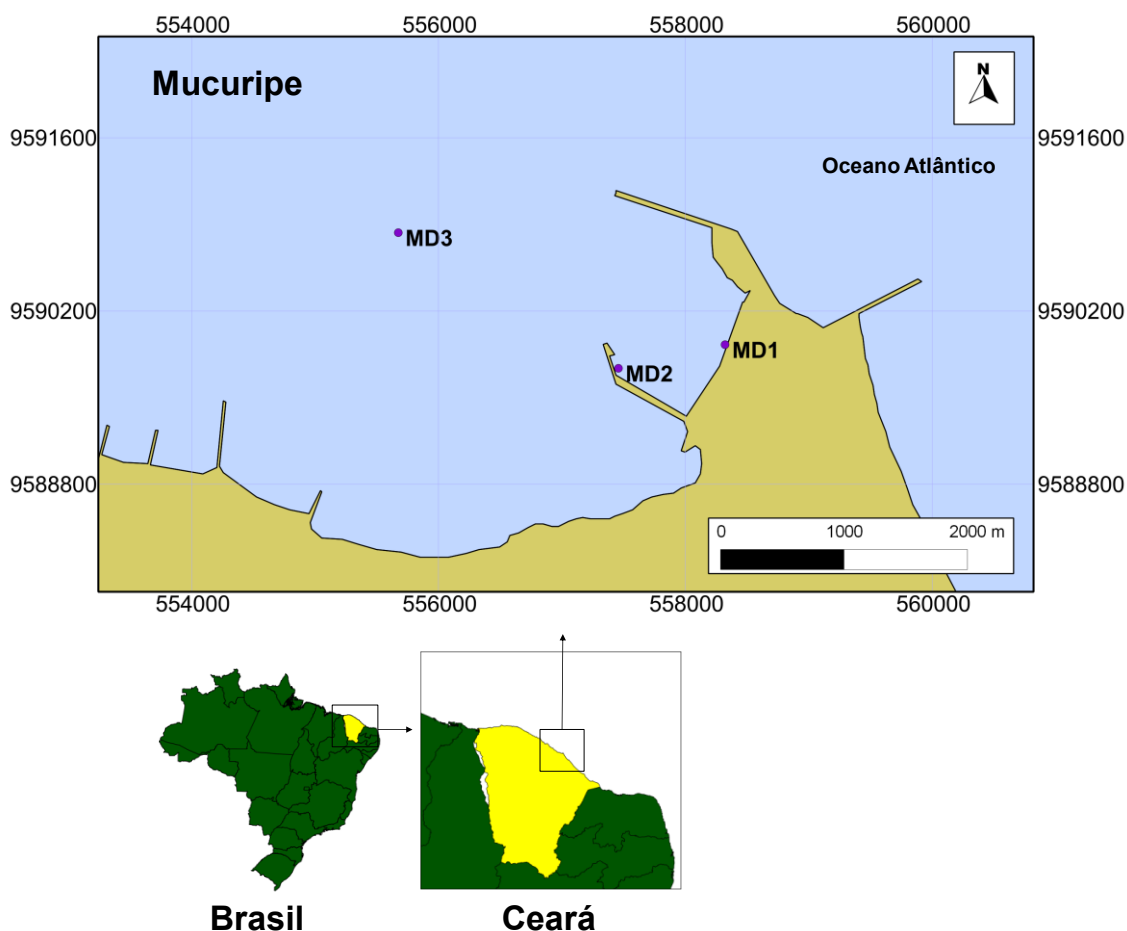


Figura 3 – Localização das estações de coleta de sedimentos e exposição de bivalves *in situ* no Porto do Mucuripe.



Figura 4 – Visão geral das estações de coleta de sedimentos e exposição de bivalves *in situ* no Porto do Mucuri. Onde a e b = lançamento de efluentes na região do porto, c= lanterna transplantada em MD1; d = pilar de fixação no píer petroleiro em MD2; e = bóia de sinalização em MD3.

Ao final do 28º dia, antes da retirada da última lanterna, amostras de água superficial e de fundo foram coletadas com auxílio de Garrafa de *van Dorn* para determinação do material particulado em suspensão (MPS) e testes de toxicidade. Foram coletadas também amostras de sedimento com auxílio de um pegador de fundo do tipo *van Veen* (com área de 0,055 m² e capacidade de 3Kg de sedimentos) para realização dos bioensaios de exposição em laboratório, além de teste de toxicidade, caracterização sedimentológica e

análises químicas. As amostras de água foram armazenadas em garrafas plásticas e mantidas a 4°C até a análise do MPS (feitas em até um dia após as coletas) e outras alíquotas congeladas e mantidas a -20°C para análise dos testes de toxicidade. Já as amostras de sedimento foram armazenadas em sacos plásticos e mantidas a 4°C até a preparação para as análises físicas e químicas e dos bioensaios.

As coletas foram realizadas a bordo da embarcação SOLDADO I e nas estações MD2 e MD3 a fixação das lanternas foi feita por meio de mergulho autônomo com auxílio dos equipamentos do Laboratório de mergulho científico e instrumentação (LAMERC) do LABOMAR, coordenado pelo Prof. Dr. Tito Monteiro da Cruz Lotufo e os amostradores utilizados cedidos pelo Laboratório de Oceanografia Física, coordenado pela Prof^a. Dr^a. Maria Ozilea Bezerra Menezes. Durante o período de exposição em campo, as gaiolas da estação MD3 foram perdidas, provavelmente ineficiência das fitas de fixação, o que permitiu apenas a análise dos organismos expostos em MD1 e MD2, além do controle no tempo 0 (Icapuí).

A partir da exposição em campo, uma semana após as coletas, foram feitos bioensaios de exposição em laboratório. O sistema de exposição foi estabelecido de acordo com USEPA (1993, 2000). Frascos de polietileno de alta densidade (PEAD) com capacidade para 3L foram usados como câmaras-teste onde 400g de sedimento foram adicionados formando uma camada de 4-5 cm aproximadamente, de forma a possibilitar o enterramento dos organismos. Em seguida foram acrescidos 1,6L de água do mar limpa e filtrada e posteriormente o sistema foi mantido a 25±2°C por 24h para que a amostra de sedimento entrasse em equilíbrio (químico e físico) com a água e após esse período, 5 organismos foram expostos em cada réplica.

O sistema foi montado em 12 réplicas nos mesmos tempos de exposição do transplante em campo (7, 14, 21 e 28 dias), e semanalmente 3 réplicas eram desmontadas e os organismos retirados para avaliação das respostas dos biomarcadores. Após a retirada, os organismos foram mantidos em água do mar limpa e filtrada por um período de 6-8h para posterior processamento.

Durante os bioensaios, a temperatura foi mantida a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e o fotoperíodo 12:12h (claro:escuro) com aeração moderada de forma a manter a saturação entre 70-100%. A alimentação dos animais foi feita a cada 2 dias com ml de uma solução de microalgas do gênero *Chlorella* sp, com renovação da água na câmara teste no 14° dia.

2.3. Processamento do Material biológico

Após o período de depuração de 6-8h após a exposição, no sentido de minimizar o estresse de coleta e transporte, os tecidos foram processados de acordo com a forma de exposição empregada. Para os organismos expostos em campo foram utilizadas as brânquias e glândulas digestivas, onde para cada estação de coleta foram preparadas 5 amostras compostas por um *pool* de 3 animais, possibilitando uma quantidade mínima de tecido para detecção das atividades enzimáticas. Não foram observadas mortes dos organismos durante o período de exposição.

Já para os organismos expostos em laboratório, em função da limitação logística para realização de um bioensaio com o número de réplicas necessário para separação dos tecidos, foram preparadas 5 amostras utilizando o organismo inteiro. Como controle, foram preparadas 5 réplicas dos tecidos (brânquia e glândula digestiva) e dos organismos inteiros com animais aclimatados, antes da exposição, constituindo a amostra no tempo 0 (T=0). Os organismos foram dissecados no laboratório com auxílio de um bisturi e as amostras dos tecidos acondicionadas em microtubos do tipo Eppendorf® e mantidas congeladas em um ultrafreezer a uma temperatura de -80°C . Após o término das coletas as amostras foram enviadas ao Laboratório do Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática da UNESP São Vicente onde permaneceram a -70°C até a realização das análises.

Como parte do preparo para a realização das análises, as amostras de tecido de cada organismo foram descongeladas sobre gelo e em seguida homogeneizadas com 2 vezes o volume em uma solução tampão 100 mM NaCl, 0,1mM EDTA, 0,1 mM DTT e PMSF 1 mM, pH 7,6 em um homogeneizador motorizado do tipo *Tissue Tearor*. Após a homogeneização,

uma alíquota de 400 µl do extrato foi separada para análise da peroxidação lipídica (LPO) e de danos em DNA (biomarcadores de efeito) e o volume restante foi centrifugado a 4°C, a 15.000g durante 30 minutos, obtendo-se assim a fração S15 (sobrenadante de 15.000g) correspondente a fração celular citoplasmática onde foram analisadas as atividades das enzimas Etoxiresorufina-O-deetilase (EROD), Glutathione Peroxidase (GPx), Glutathione Redutase (GR), Glutathione-S-transferase (GST) e Acetilcolinesterase (AChE) apenas nos organismos expostos em Laboratório. Foram analisadas as concentrações de proteínas nas duas frações (extrato e S15) através do método de Bradford (1976).

2.4. Análises físicas, químicas e testes de toxicidade com as amostras de água.

Em laboratório, as amostras de água superficial e de fundo foram analisadas quanto ao teor de material particulado em suspensão (MPS) através da filtração de 3L de água em filtros de 0,45 µm de diâmetro de poro para retenção de partículas (Millipore®) com resultados expressos em mg/L. Níveis de amônia (total e não ionizada) foram estimados através de um eletrodo seletivo para amônia, modelo ORION 95-12.

Testes de toxicidade aguda e crônica foram realizados como medidas de efeito e qualidade das águas. O teste de toxicidade aguda foi empregado utilizando como organismo teste o misidáceo *Mysidopsis juniae* de acordo com protocolo descrito na norma técnica NBR 15308 (ABNT, 2011). Neste teste, as amostras (incluindo o controle, que é a água do mar do cultivo) foram preparadas em béqueres em alíquotas de 300 ml, compondo o sistema-teste, montados em triplicatas. Em cada réplica do sistema, 10 indivíduos juvenis de *M. juniae* (proveniente do cultivo Laboratório de Ecotoxicologia Marinha do LABOMAR), foram expostos às amostras e mantidos sob fotoperíodo de 12h luz : 12h escuro a 25±2°C. A duração da exposição do teste foi de 96h, tendo sido feitas a cada 24h a contagem dos indivíduos mortos e também a alimentação dos animais com náuplios de *Artémia sp.*, numa proporção de 30:1

(náuplios: misidáceo). Ao final do período o número total de mortos foi contado em todas as amostras, incluindo o controle para interpretação dos resultados, expressos em % de mortalidade.

Já o teste de toxicidade crônica empregado foi o de curta duração de desenvolvimento larval do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* conforme a Norma Técnica NBR 15350 (ABNT, 2006). Foram montadas 4 réplicas para cada amostra, além do controle referente à água do mar filtrada, e o sistema-teste incubado a $25\pm 2^\circ\text{C}$ por 24h. Ao final do teste foi feita a contagem das larvas para estimativa de efeitos sub-letais (mal-formação das larvas). Os resultados foram expressos em % de larvas anômalas.

Para análise estatística dos testes os dados de mortalidade *M. juniae* e desenvolvimento anômalo das larvas de *L. variegatus* foram comparados com os seus respectivos controles empregando o teste-t simples (t'Student) e teste-t por bioequivalência usando a constante de 0,91 (Bertoletti *et al.*, 2007). Antes da aplicação, os dados foram submetidos à avaliação do tipo de distribuição (normalidade) pelo teste do Chi-quadrado e, homogeneidade de variâncias, pelo teste de Fisher. Para estas análises, foi utilizado o software TOXSTAT - versão 3.5[®] (West & Gulley, 1996). As amostras diferentes significativamente do controle foram consideradas **tóxicas** ($p < 0,05$) e as que não apresentaram diferença significativa foram consideradas **não tóxicas**.

2.5. Análises sedimentológicas, e químicas dos sedimentos.

A determinação das frações granulométricas foi feita através do peneiramento úmido das amostras secas (50g) em malha de 0,063 mm para separação da fração fina (silte+argila). Em seguida, com as frações remanescentes foram feitos peneiramentos secos em um agitador mecânico (Shaker) com a separação das diferentes frações: cascalho (>2mm), areia (>0,063 – 2mm) e finos (<0,063mm). A estimativa dos teores de carbonato de cálcio (CaCO_3) foi feita seguindo o método de digestão e gravimetria descrito por Gross (1971). Já a determinação dos teores de matéria orgânica (MO) foi

feito através do método de combustão e gravimetria (Luczak *et al.*, 1997). Os resultados foram expressos em %.

A concentração de carbono orgânico total (TOC) das amostras foi obtida através do analisador de carbono orgânico total (TOC –V CPH Shimadzu) acoplado com módulo para amostras sólidas (SSM – 5000^a Shimadzu). As análises de nitrogênio total (N) e fósforo total (P) foram feitas através do método colorimétrico descrito por Grasshoff *et al.* (1999), quantificados por espectrofotometria.

As análises das concentrações de metais em sedimentos foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Costeira do LABOMAR, sob a coordenação da Prof^a. Dr.^a Rozane Valente Marins. Os teores de metais foram determinados na fração total das amostras secas através do método de Digestão ácida em HCl/HNO₃ (3:1) Assistida por Microondas de acordo com o método EPA 3051A (USEPA, 1996). A leitura da concentração dos metais Al, Fe, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn nos extratos foi feita em um Espectrofotometro de Absorção Atômica em Chama modelo com correção com lâmpada de deutério para análise de Pb, Ni e Hg. Para validação do procedimento de extração e leitura, foram analisados em triplicatas amostras do material de Referência SRM 2704 - Buffalo River Sediment e SRM-1646a - Estuarine sediments BRC® 667.

Análises das concentrações hidrocarbonetos alifáticos (AH), policíclicos aromáticos (HPA) e alquilbenzenos lineares (LAB) foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica Marinha do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IOUSP), coordenado pela Prof^a. Dr.^a Márcia Caruso Bicego. Nesta análise, extratos das amostras de sedimento foram preparados em Soxhlet com uma mistura 50% diclorometano/n-hexano, seguindo a metodologia descrita em UNEP (1992). Os extratos foram então fracionados por cromatografia em coluna de sílica-gel e alumina. As concentrações de AH foram determinadas por cromatografia gasosa 6890 da Agilent Technologies com detector de ionização de chama (GC-FID), enquanto as concentrações de LAB e HPA foram quantificadas em um cromatógrafo a

gás Agilent 6890 acoplado a um espectrômetro de massa 5973N (GC/MS) no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM).

2.6. Testes de toxicidade com sedimentos

Nos testes de toxicidade com sedimentos, foram empregadas duas formas de exposição: sedimento integral e interface sedimento-água através de testes de efeitos agudos e crônicos. O teste de toxicidade de agudo com sedimento integral empregado consistiu na utilização do anfípodo escavador *Tiburonella viscana* como organismo-teste segundo o procedimento descrito na Norma técnica NBR 15638 (ABNT, 2002) e descrito no capítulo 1 deste estudo.

No teste crônico, foi utilizado copépodo bentônico harpaticoida da espécie *Tisbe biminiensis* como organismo teste, de acordo com o método descrito por ISO (1999), utilizando a fração total dos sedimentos. Os organismos são mantidos em cultivos no Laboratório do Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática (NEPEA) do Campus Experimental do Litoral Paulista da Universidade Estadual Paulista (UNESP). No procedimento, uma alíquota de aproximadamente 5g de sedimento foi colocada em um frasco de polietileno com capacidade para 30 ml e em seguida 20 ml de água do mar filtrada foram adicionados, constituindo a câmara-teste, montadas em 5 réplicas. O teste consistiu na exposição de 5 fêmeas ovígeras por réplica durante 7 dias a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ com fotoperíodo de 16:8 (claro/escuro). Ao final do teste, as amostras foram fixadas com formol 4% e coradas com corante Rosa-Bengala 0,1%. Em seguida, os organismos contados e identificados para avaliação e expressão dos resultados em fecundidade, pelo número de nuplios + copepoditos por fêmeas em cada réplica.

Para o teste agudo com a interface sedimento-água, foi empregado o misidáceo da espécie *M. junie* como organismo teste. A câmara-teste foi preparada em um béquer contendo 60 g de sedimento acrescidos de 240ml de água do mar filtrada. Após o período de equilíbrio na câmara, foram adicionados 10 juvenis de *M. junie* e o teste conduzido conforme o procedimento descrito na norma técnica NBR 15308 (ABNT, 2011).

Já o teste crônico empregado foi o de curta duração com as larvas do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*, conforme a Norma Técnica NBR 15350 (ABNT, 2006) utilizando o sistema-teste proposto por Anderson *et al.* (2001) e adaptado por Cesar (2003) para realização em pequenos volumes, conforme descrito no capítulo 1 deste estudo. O teste foi conduzido pela adição de cerca de 400 ovos a cada réplica do sistema (4 réplicas), além dos controles, para observação de efeitos sub-letais (mal-formação das larvas) ao final do teste. Para análise estatística dos testes, foram utilizados os mesmos procedimentos e testes empregados nos ensaios com as amostras de água.

2.7. Análise dos biomarcadores

2.7.1. Colinesterase (AChe)

A AChE atua principalmente nas terminações nervosas e a sua função básica é catalisar a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina formando acetato e tiocolina, permitindo que o receptor colinérgico retorne a condição inicial antes da ativação e inibindo a transmissão excessiva do mesmo (Andreescu & Marty, 2006). A metodologia utilizada para determinação da atividade da AChE na Fração S15 dos organismos expostos em laboratório foi aquela descrita por Ellman *et al.* (1961) e adaptada por Montserrat *et al.* (2006) para realização em leitor de placas multicavidades. Alíquotas de 33,4 μl das amostras foram incubadas em tampão Fosfato (0,1M; pH 7,6) com o substrato iodeto de acetilcolina (Sigma-aldrich) 0,075M e ditionitrobenzeno 10mM (DTNB). A reação colorimétrica da tiocolina com o DTNB foi então monitorada por espectrofotometria a 412 nm em intervalos de 5 min, durante 20 min. Os resultados são expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.7.2. Etoxiresorufina-O-deetilase (EROD)

A EROD é uma enzima da família Citocromo P450, que atua na Fase 1 como uma representante do grupo das oxigenases de função mista (MFO). Nesta análise, a atividade da enzima EROD foi determinada na fração S15 das amostras, de acordo com o método proposto por (Gagné & Blaise, 1993) adaptado por Martín-Díaz *et al.* (2009) para realização em leitor de placas

multicavidades. Neste protocolo, 50 μL da fração S15 foram incubados em um meio de reação para transformação do substrato 10 μM 7-etoxiresorufina em 7-hidroxiresorufina (resorufina) pela enzima EROD, iniciada pela adição de 100 μM de NADPH (em tampão 100 mM KH_2PO_4). A partir do início da reação, a formação do composto 7-hidroxiresorufina foi monitorada cada 10 min durante 1h através da fluorescência da reação (516nm de excitação e 600nm de emissão). A fluorescência de cada amostra foi transformada usando uma curva padrão de 7-hidroxiresorufina e os resultados expressos em $\text{pmol resorufina}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.7.3. Glutathione-S-transferase (GST)

A enzima GST participa dos mecanismos da Fase 2 atuando sobre a conjugação de compostos modificados pelo mecanismos de Fase 1 com a glutathione reduzida. O protocolo utilizado para determinação da atividade da GST na fração S15 das amostras foi descrito por McFarland *et al.* (1999) e adaptado por Martín-Díaz *et al.* (2009) para realização em leitor de placas multicavidades. As amostras foram incubadas em um meio de reação tampão fosfato de potássio (pH 6,5) contendo 42 mM 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) e 1mM GSH como substratos e a formação do conjugado glutathione-2,4-dinitrobenzeno foi monitorada a cada 5 min durante 30min por espectrofotometria a 340 nm. Os resultado foram expressos em $\mu\text{mol NADPH}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.7.4. Glutathione Peroxidase (GPx).

A GPx desempenha um papel importante nos processos de defesa contra o estresse oxidativo através da catálise do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água através da oxidação da glutathione reduzida (GSH) que passa então a estar na forma oxidada (GSSG) (Van der Oost *et al.*, 2003). A enzima utiliza o co-fator NADPH como doador de elétrons e a oxidação observada pelo consumo do NADPH é o indicativo da atividade enzimática. O método utilizado para a análise da GPx na fração S15 das amostras foi descrito McFarland *et al.*

(1999) para realização em leitor de placas multicavidades, onde a atividade enzimática foi monitorada por espectrofotometria a 340 nm a partir da incubação das amostras em um tampão de reação (pH 7) contendo 50 mM de fosfato de potássio, 0.1 mM EDTA e azida sódica 0,15 mM, usando hidroperóxido de cumento (1 mM) como substrato. Os resultado foram expressos em $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.7.5. Glutathione Redutase (GR)

Paralelamente à GPx, a enzima GR catalisa a redução do GSSG a GSH. A enzima também utiliza o co-fator NADPH como doador de elétrons e o consumo do NADPH também é o indicativo da atividade enzimática. O método utilizado para a análise da atividade da GR na fração S15 das amostras foi descrito McFarland *et al.* (1999) para realização em leitor de placas multicavidades. Alíquotas das amostras foram incubadas em um tampão fosfato de potássio (pH 7,6) contendo o 30mM glutathione oxidada (GSSG) como substrato e o co-fator NADPH 0.8 mM. O consumo do NADPH foi monitorado a cada 2 min durante 10min por espectrofotometria a 340 nm. Os resultado foram expressos em $\mu\text{mol NADPH min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína.

2.7.6. Peroxidação lipídica (LPO)

No presente estudo a análise de peroxidação lipídica foi realizada pelo o método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) proposto por Wills (1987). As TBARs são produtos intermediários da peroxidação lipídica gerada por radicais livres durante o estresse oxidativo e uma delas, o malondialdeído (MDA), reage com o ácido tiobarbitúrico produzindo tetrametoxipropano (Janero, 2000). Neste método as 150 μl das amostras foram incubadas em ácido tricloroacético 10% (TCA) e ácido tiobarbitúrico 0.67% (TBA) em 1mM FeSO_4 a 70°C por 10 min. Após a incubação as amostras foram centrifugadas e o precipitado analisado em fluorescência 516 nm excitação/600 nm emissão. Através de um curva padrão de

tetrametoxipropano, as concentrações foram calculadas e os resultados expressos em μM TBARs/mg proteínas.

2.7.7. Danos em DNA (quebras de fita)

Tal qual a LPO, os danos em DNA podem se manifestar como efeito do estresse oxidativo ou da exposição a agentes químicos (hidrocarbonetos e pesticidas). O método empregado para avaliação dos danos em DNA foi o da precipitação alcalina (Olive, 1988), que quantifica vestígios livres de DNA, resultado da quebra da fita do DNA genômico, separados durante o procedimento.

Amostras dos extratos de tecido homogeneizado (25 μL) foram adicionadas a 200 μL de 2% SDS contendo 10 mM EDTA, 10 mM Tris-base e 40 mM NaOH e após a mistura das soluções, 200 μL de KCl 0,12M foram adicionadas e a solução misturada novamente. Feito isso, as soluções foram aquecidas em banho-maria por 10min a 60°C e em seguida incubadas a 4°C por 30 min. Por fim, as amostras foram então centrifugadas por 5 min a 8000g (4°C). Na placa multicavidade, o sobrenadante (50 μL) foi separado e adicionado a 150 μL de corante Hoescht que foi preparado e diluído a 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em um tampão contendo 0,4 M NaCl, 4 mM colato de sódio e 0,1 M Tris-acetato (pH 8,5). No leitor de microplacas, após uma agitação de 5min, a fluorescência foi medida através de filtros de 360 nm (excitação) e 450 nm (emissão). Os valores de fluorescência foram então transformados em concentrações através da leitura de uma curva padrão de DNA genômico de esperma de salmão e os resultados expressos em μg de DNA por mg^{-1} de proteína.

2.7.8. Quantificação da concentração das proteínas totais.

Os resultados das atividades enzimáticas, bem como da peroxidação lipídica e danos em DNA são normalizados e expressos por mg de proteína total e para isso, a concentração de proteínas foi determinada em ambas as frações (S15 e homogenato) através do método de Bradford (1976). Nele,

alíquotas de 20µl das frações das amostras foram incubadas por 30 min em um meio contendo reagente de Bradford, preparado a partir da diluição do corante Comassie Blue G-250 em etanol 95% e H₃PO₄ 85%. Em seguida, foi feita a leitura das amostras por espectrofotometria a 595 nm, as absorbâncias das amostras transformadas em concentrações de proteínas totais através da leitura de curvas padrão de albumina de soro bovino (BSA), e os resultados foram expressos em mg.mL⁻¹.

2.7.9. Análise estatística dos biomarcadores

Métodos estatísticos univariados foram utilizados para analisar as respostas dos biomarcadores. As respostas obtidas em cada estação e em cada tempo foram comparadas com as respostas dos organismos no controle (t=0) através da análise de variâncias (ANOVA), seguida de comparações múltiplas pelo teste Dunnett, com nível de significância de 5% (p=0,05).

2.8. Integração dos resultados

Foi empregado o método estatístico multivariado de Análise dos Componentes Principais com Ordenação do tipo *Bi-Dimensional* (PCA), no sentido de estabelecer associações entre as variáveis analisadas e as respostas dos biomarcadores. Duas análises foram feitas, sendo a primeira integrando os dados da exposição em campo e a segunda integrando os resultados da exposição em laboratório.

Em cada análise, os dados foram organizados em duas matrizes: a primeira foi composta pelas variáveis ambientais e a segunda foi organizada com os dados das respostas biológicas, incluindo os testes de toxicidade aguda e crônica, além das respostas dos biomarcadores no 28° dia de exposição. Em cada matriz, os resultados expressos em % foram transformados pela função arco-seno, possibilitando a comparação com os dados contínuos e em seguida os dados da matriz foram normalizados pela função $\log(x+1)_{10}$, visando reduzir diferenças de grandeza entre as variáveis.

3. Resultados

3.1. Caracterização das estações: Resultados das análises das amostras de água e sedimentos.

Na Tabela 1 são apresentados os parâmetros de qualidade de água e resultados dos testes de toxicidade das amostras de água superficial (S) e fundo (F) coletadas nas estações de exposição na região do Porto do Mucuripe durante a dragagem (1ª campanha) e ao fim da dragagem (2ª campanha). A salinidade variou pouco, entre 35 e 38. O mesmo ocorreu com o pH, que variou entre 8,1 e 8,3. Os teores de oxigênio dissolvido (OD) medidos em campo foram altos, com concentrações entre 6,3 e 7,9. Baixas concentrações de nitrogênio amoniacal (NH_4) e amônia não-ionizada (NH_3) foram detectadas apenas em MD1 na 1ª campanha. Em relação ao material particulado em suspensão (MPS), é possível observar um efeito direto da dragagem sobre a distribuição de partículas na coluna d'água, onde os teores na 1ª campanha variaram entre 0,03 a 0,316 g/l enquanto que na 2ª campanha os teores variaram entre 0,014 e 0,025 g/l. Sobre a toxicidade aguda, a amostra da estação MD1 foi tóxica, produzindo mortalidade significativa para *M. junie* nas amostras de água de superfície e fundo nas duas campanhas enquanto que para a toxicidade crônica, em MD1, para águas de superfície e fundo, em MD2, para água de fundo, ocorreu toxicidade sobre as larvas de *L. variegatus*.

Tabela 1 – Parâmetros de qualidade de água e resultados dos testes de toxicidade das amostras de água superficial (S) e fundo (F) coletadas nas estações de exposição na região do Porto do Mucuripe.

Amostra	salinidade	pH	OD (mg/L)	NH ₄ (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	MPS (g/l)	Agudo (% efeito)	Crônico (% efeito)	
CONTROLE	36	8,0	5,3	<0,04	<0,01	0,006	3±6	9±4	
1ª campanha	MD1S	35	6,1	0,05	0,03	0,126	*77±21	*36±2	
	MD1F	38	6,3	0,05	0,04	0,316	*77±25	*45±8	
	MD2S	38	8,3	6,7	<0,04	<0,01	0,035	10±10	16±3
	MD2F	38	8,2	6,6	<0,04	<0,01	0,188	0	*96±3
	MD3S	38	8,2	6,6	<0,04	<0,01	0,041	3±6	10±4
	MD3F	38	8,3	6,6	<0,04	<0,01	0,030	20±20	19±2
2ª campanha	MD1S'	38	8,1	6,9	<0,04	<0,01	0,017	*100±0	13±6
	MD1F'	38	8,1	7,5	<0,04	<0,01	0,014	*20±0	13±7
	MD2S'	37	8,2	7,5	<0,04	<0,01	0,014	10±0	14±6
	MD2F'	38	8,2	7,6	<0,04	<0,01	0,018	10±0	18±7
	MD3S'	37	8,1	7,9	<0,04	<0,01	0,016	0	11±5
	MD3F'	38	8,2	7,5	<0,04	<0,01	0,025	7±6	13±5

*= amostra tóxica (p<0,05)

Os resultados das análises das amostras de sedimento são apresentados na Tabela 2. A profundidade nas estações MD1 (11 e 13m) e MD3 (5 e 8m) variou entre as campanhas como resultado direto das atividades de dragagem; já a estação MD2 não foi dragada. A granulometria dos sedimentos foi similar nas duas campanhas, com as frações com a predominância de sedimentos finos (silte+argila) em MD1 e predominância de sedimentos arenosos em MD2 e MD3 nas duas campanhas e na estação do Icapuí a predominância foi de sedimentos arenosos. Os teores de carbonato de cálcio (CaCO₃) foram similares entre as estações, com os maiores valores em MD1, estação de maior deposição de sedimentos e na estação Icapuí os teores foram de 95,91%.

Os teores de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio (N) apresentaram distribuição similar, com os maiores valores nos sedimentos de MD1 com 0,49 e 0,69% de COT, 0,60 e 0,51% de N nas 1ª e 2ª campanhas, respectivamente, porém tais valores foram similares aos valores da estação de referência (Icapuí). Já os teores de fósforo (P) foram maiores nos sedimentos de MD3 nas duas campanhas, mas similares ao valor da estação do Icapuí, que foi de 3,56%.

Em relação aos metais, os sedimentos da estação MD1 apresentaram as maiores concentrações para todos os metais nas duas campanhas. O mesmo padrão de distribuição foi encontrado para os contaminantes orgânicos, com as maiores valores de hidrocarbonetos alifáticos (AH) e policíclicos aromáticos (HPA) encontradas em MD1, sendo as concentrações de HPA detectadas apenas em MD1 nas duas campanhas e MD2 na primeira campanha. Já as concentrações de alquilbenzenos lineares (LAB) foram baixas no geral, sendo detectadas apenas em sedimentos de MD1 na segunda campanha. Não foram detectadas concentrações de contaminantes de HPA e LAB nos sedimentos do Icapuí. De modo geral comparando as concentrações dos contaminantes, é possível observar uma redução dos valores, o que pode ser efeito das dragagens, através da remoção de sedimentos superficiais recentes com níveis mais altos de contaminação.

Por fim, em relação aos resultados dos testes de toxicidade, os sedimentos de todas as estações na primeira campanha e MD1 na segunda campanha foram tóxicos sobre o anfípodo *T. viscana* (SI agudo). No teste crônico com sedimento integral (SI crônico), apenas o sedimento de MD3 na segunda campanha induziu uma redução significativa na taxa de reprodução do copepodo *T. biminiensis*. Nos testes de toxicidade com interface sedimento-água, sedimentos das estações MD1 (nas duas campanhas) e MD2 (na segunda) apresentaram efeito tóxico agudo. Já no teste crônico, apenas sedimento de MD3 na primeira campanha não apresentou efeito significativo. A estação do Icapuí não apresentou toxicidade em nenhum dos testes empregados, o que confirma a estação como área referência.

Tabela 2 – Resultado das variáveis sedimentológicas, e químicas e resultados dos testes de toxicidade dos sedimentos coletados nas estações de exposição na região do Porto do Mucuripe.

Variável	Icapuí	1ª campanha			2ª campanha		
		MD1	MD2	MD3	MD1'	MD2'	MD3'
profundidade (m)	0	11	6	5	13	6	8
% de areia	95,91	37,91	82,73	91,59	36,55	57,58	87,94
% de finos	4,59	62,16	19,08	10,02	63,51	44,40	13,36
% de CaCO ₃	35,43	25,29	5,45	18,44	17,61	7,64	13,56
COT (%)	0,10	0,49	0,07	0,06	0,69	0,04	0,06
N (%)	0,43	0,60	0,19	0,43	0,51	0,37	0,36
P(%)	3,56	2,76	2,08	4,01	2,50	3,52	3,60
Al (%)	0,09	0,96	0,24	0,25	0,96	0,06	0,08
Fe(%)	0,13	1,06	0,25	0,26	1,08	0,14	0,21
Cd (µg/g)	0,19	0,16	0,16	0,15	0,15	0,14	0,14
Cr (µg/g)	<2,00	25,94	15,51	13,43	2,51	<2,00	<2,00
Cu (µg/g)	0,36	13,64	1,41	1,56	11,11	2,03	2,18
Ni (µg/g)	2,07	8,04	1,57	2,23	10,06	4,24	3,52
Pb (µg/g)	9,84	21,99	15,93	19,44	22,92	13,89	22,43
Zn (µg/g)	0,71	25,79	2,45	2,84	20,97	1,10	2,14
AH (µg/g)	0,56	655,53	0,99	0,76	408,47	0,54	0,48
HPA (ng/g)	<1,00	1160,43	2,96	<1,00	690,88	<1,00	<1,00
LAB (ng/g)	<0,85	<0,85	<0,85	<0,85	91,62	<0,85	<0,85
Toxicidade (% de efeito)							
SI agudo	23±12	*93±12	*57±15	*37±6	*70±17	17±21	27±12
SI crônico**	25±18	11±3	37±2	28±11	46±32	14±2	*4±1
ISA agudo	3±6	*40±20	10±10	20±17	*44±11	*59±36	12±11
ISA crônico	20±2	*99±1	*63±16	87±12	*100±0	*100±0	*100±0

*= amostra tóxica (p<0,05); ** = fecundidade (n° de nuplios + copepoditos/fêmeas).

3.2. Resposta dos biomarcadores

3.2.1. Exposição em campo

Atividade enzimática da EROD nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliense* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo é apresentada na Figura 5. Na 1ª campanha, houve um aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade enzimática em relação ao tempo 0 (Icapuí) nas brânquias em MD1 e MD2 apenas no 28º dia de exposição. Já nas glândulas digestivas, houve um aumento significativo no 14º e 28º dias em MD1 e no 7º e 21º dias em MD2. Já na 2ª campanha, o aumento significativo da atividade enzimática nas brânquias ocorreu no 21º e 28º dias apenas em MD1.

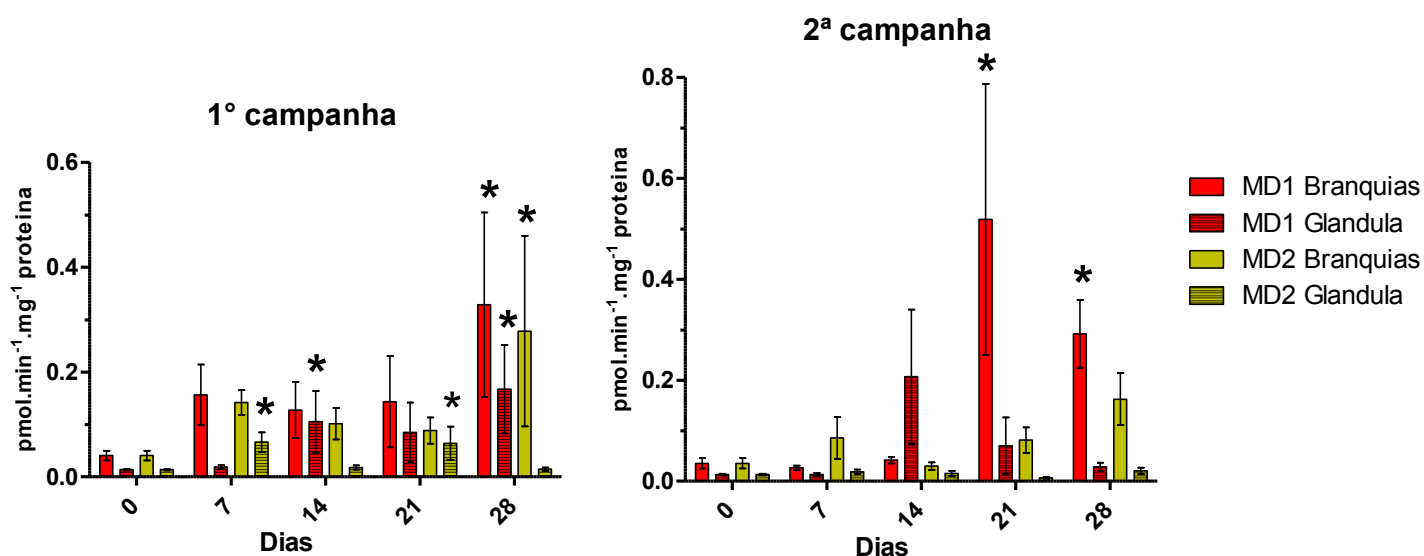


Figura 5 – Atividade enzimática da EROD nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliense* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo. *= diferença significativa de T0 ($p < 0,05$).

A atividade enzimática da GST nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo é apresentada na Figura 6. Na 1ª campanha, é possível observar um aumento significativo da atividade enzimática nas brânquias comparada ao tempo 0 (Icapuí) em MD1 nos dias 7, 21 e 28 e em MD2 nos dias 7 e 28. Nas glândulas digestivas o aumento significativo ocorreu apenas em MD1 nos dias 14 e 21 de exposição. Na 2ª campanha, houve um aumento significativo da atividade enzimática nas brânquias apenas no 21º dia em MD1 e no 28º dia em MD2. Não foi observado aumento significativo na atividade da GST nas glândulas digestivas em ambas as estações.

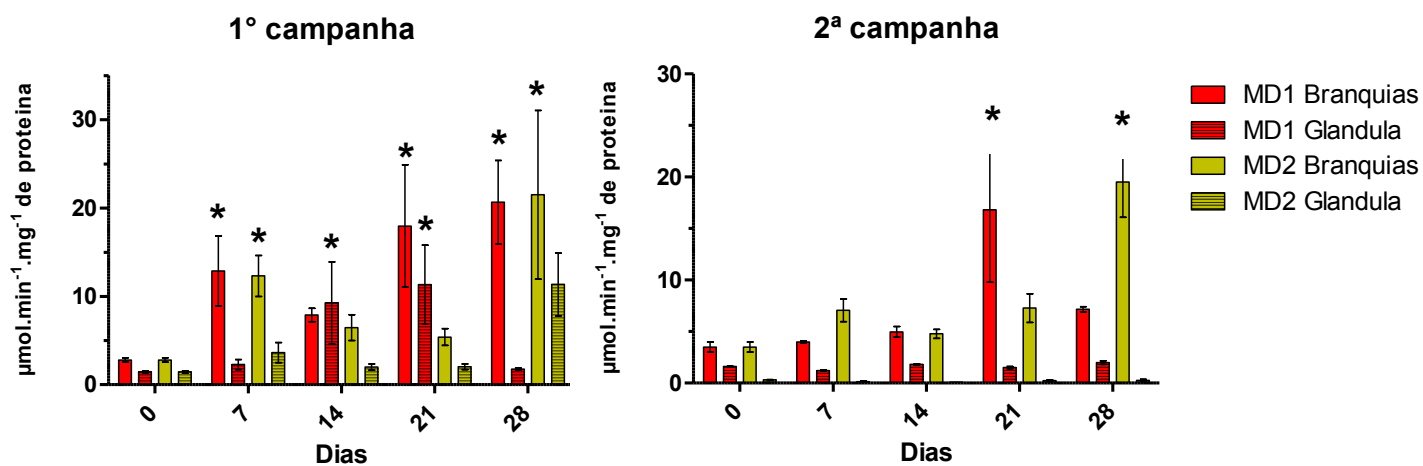


Figura 6 - Atividade enzimática da GST nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo. *= diferença significativa de T0 ($p < 0,05$).

A atividade enzimática da GPx nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo é apresentada na Figura 7. Na 1ª campanha, houve o aumento significativo da atividade enzimática nas brânquias comparada ao tempo 0 (Icapuí) em MD1 no 28º dia e em MD2 nos 7º e 28º dias de exposição. Na 2ª campanha, foi observado o aumento significativo da atividade enzimática nas brânquias em MD1 e MD2 no 28º dia. Não foi observado aumento significativo na atividade enzimática nas glândulas em nenhuma das estações.

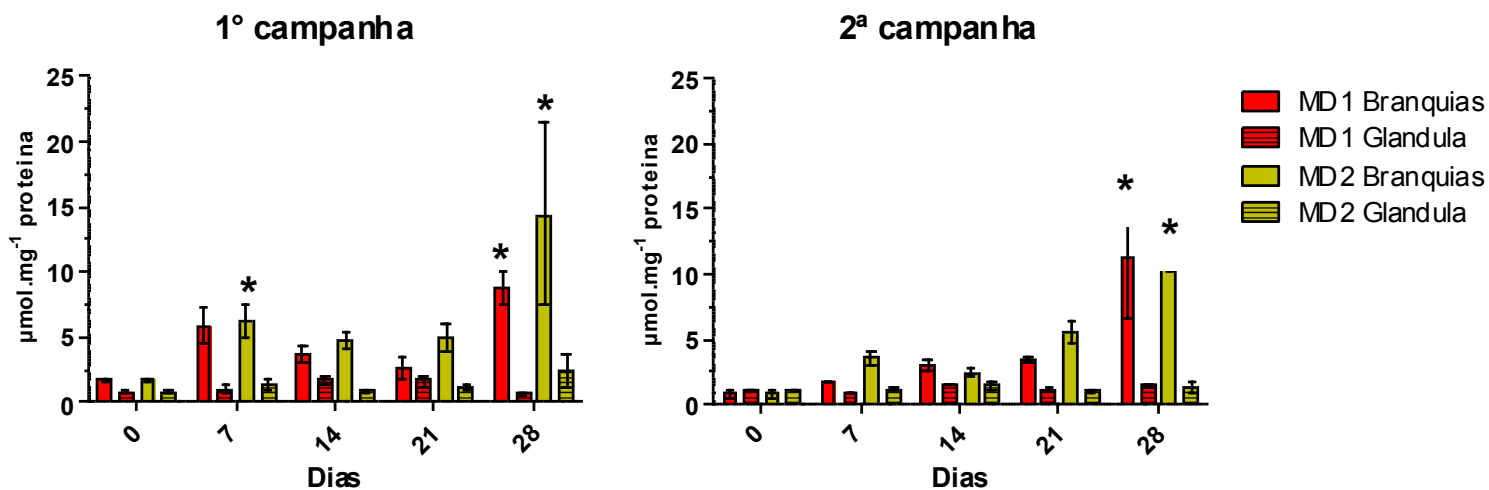


Figura 7 – Atividade enzimática da GPx nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo. *= diferença significativa de T0 ($p < 0,05$).

Atividade enzimática da GR nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo é apresentada na Figura 8. Na 1ª campanha houve o aumento significativo da atividade enzimática nas brânquias comparada ao tempo 0 (Icapuí) em MD1 no 7º dia e em MD2 no 21º dia. Nas glândulas digestivas o aumento significativo ocorreu apenas em MD1 no 28º dia. Na 2ª campanha, pode ser observado o aumento significativo da atividade enzimática apenas nas brânquias em MD1 nos 21º e 28º dias de exposição.

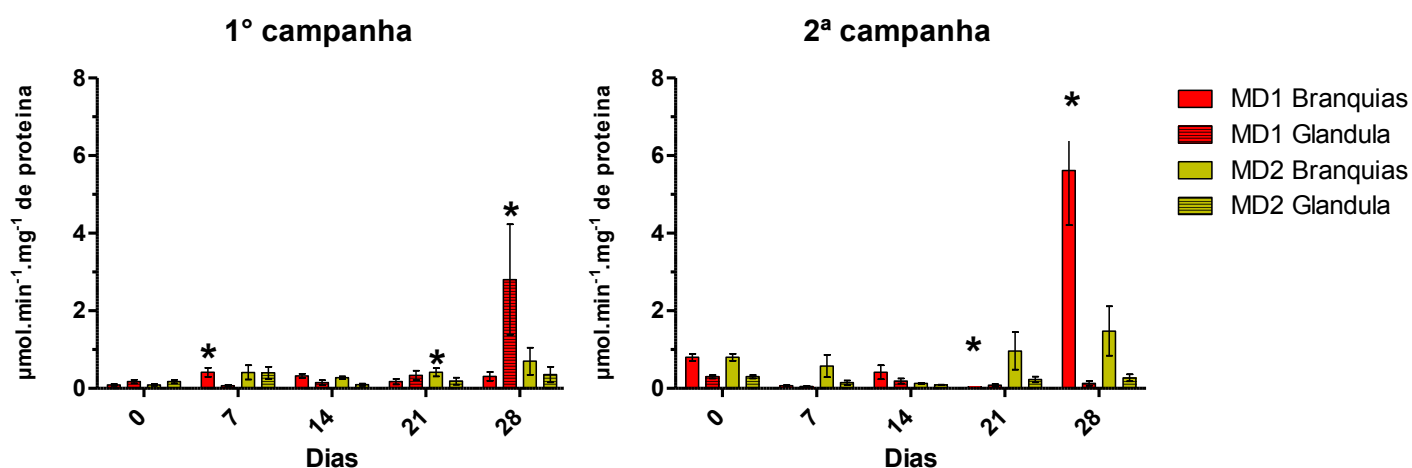


Figura 8 – Atividade enzimática da GR nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo. *= diferença significativa de T0 ($p < 0,05$).

Os resultados da peroxidação lipídica (LPO) nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo são apresentados na Figura 9. Na 1ª campanha pode ser observado o aumento significativo ($p < 0,05$) em relação ao tempo 0 (Icapuí) da LPO nas brânquias dos organismos da estação MD1 nos dias 7 e 28. Nas glândulas digestivas aumento significativo foi observado apenas em MD1 no 28º dia. Na 2ª campanha houve o aumento significativo apenas nas brânquias dos organismos expostos em MD1 no dia 28.

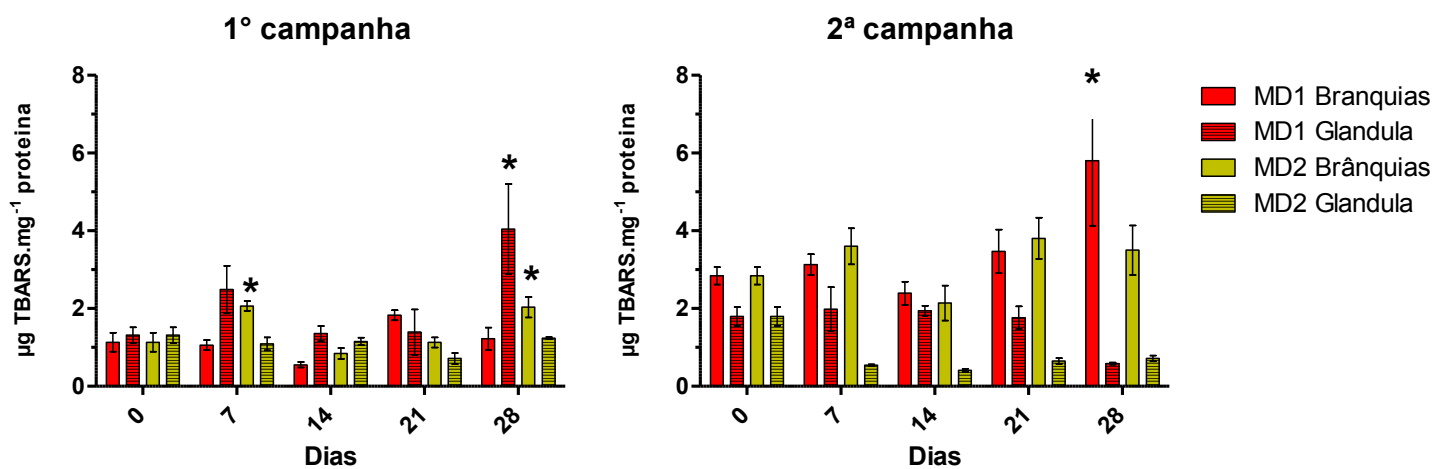


Figura 9 – Peroxidação lipídica nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuri em campo. *= diferença significativa de T0 ($p < 0,05$).

Os resultados dos danos em DNA (quebra das fitas) nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuri em campo são apresentados na Figura 10. Na 1ª campanha pode ser observado o aumento significativo ($p < 0,05$) dos Danos em DNA em relação ao tempo 0 (Icapuí) apenas nas glândulas digestivas dos organismos expostos em MD1 no 28º dia. Na 2ª campanha, houve o aumento significativo dos danos em DNA nas glândulas digestivas dos organismos expostos em MD1 em todos os tempos de exposição (dias 7, 14, 21 e 28).

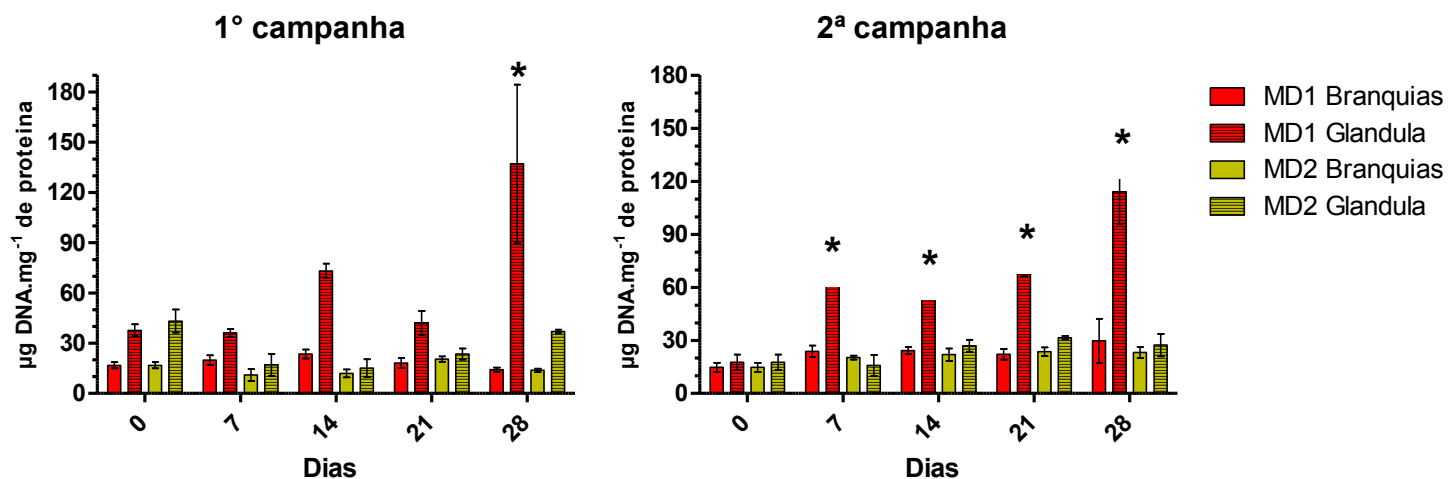


Figura 10 – Danos em DNA (quebra das fitas) nas brânquias e glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em campo. *= diferença significativa de T0 ($p < 0,05$).

A matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores nas brânquias de *A. brasiliiana* expostas em campo é apresentada na Tabela 3. Correlações positivas significativas ($p < 0,05$) são observadas entre a atividade da GST com EROD e GPx, indicando a indução dos mecanismos de detoxificação (Fase 1) e conjugação (Fase 2). É possível observar também uma correlação significativa da atividade da GPx com a GR, o que indica também a ativação do sistema de defesa contra o estresse oxidativo. Por outro lado, as correlações encontradas entre a atividade da GR com a LPO e com os danos em DNA apontam que esses efeitos podem ser associados ao estresse oxidativo, induzido pela exposição a contaminantes durante os períodos de exposição.

Já a matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores nas glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas em campo é apresentada na Tabela 4. Correlações positivas significativas ($p < 0,05$) são observadas para a atividade enzimática da GST com a GPx, GR e com os danos em DNA, indicando efeitos induzidos pelo estresse oxidativo. Pode ser observada também correlação significativa entre a atividade da EROD com a LPO, indicando que o efeito pode ser atribuído à exposição de contaminantes orgânicos.

Tabela 3 – Matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores nas brânquias de *A. brasiliiana* expostas em campo. Correlações significativas em negrito.

Biomarcador	Pearson	EROD	GPx	GR	GST	LPO	Dano em DNA
EROD	Coeficiente		0,3971	0,2111	0,6402	0,2440	0,1084
	Valor de p		p=0,083	p=0,372	p=0,002	p=0,300	p=0,649
GPx	Coeficiente	0,3971		0,5014	0,6782	0,2408	0,0756
	Valor de p	p=0,083		p=0,024	p=0,001	p=0,306	p=0,751
GR	Coeficiente	0,2111	0,5014		0,0042	0,7268	0,5088
	Valor de p	p=0,372	p=0,024		p=0,986	p=0,000	p=0,022
GST	Coeficiente	0,6402	0,6782	0,0042		-0,0075	-0,1508
	Valor de p	p=0,002	p=0,001	p=0,986		p=0,975	p=0,526
LPO	Coeficiente	0,2440	0,2408	0,7268	-0,0075		0,5547
	Valor de p	p=0,300	p=0,306	p=0,000	p=0,975		p=0,011
Dano em DNA	Coeficiente	0,1084	0,0756	0,5088	-0,1508	0,5547	
	Valor de p	p=0,649	p=0,751	p=0,022	p=0,526	p=0,011	

Tabela 4 - Matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores nas glândulas digestivas de *A. brasiliiana* expostas em campo. Correlações significativas em negrito.

Biomarcador	Pearson	EROD	GPx	GR	GST	LPO	Dano em DNA
EROD	Coeficiente		0,0809	0,2394	0,2057	0,5112	0,3291
	Valor de p		p=0,735	p=0,309	p=0,384	p=0,021	p=0,157
GPx	Coeficiente	0,0809		0,3476	0,7350	-0,3372	0,2874
	Valor de p	p=0,735		p=0,133	p=0,000	p=0,146	p=0,219
GR	Coeficiente	0,2394	0,3476		0,5067	-0,0430	0,1759
	Valor de p	p=0,309	p=0,133		p=0,023	p=0,857	p=0,458
GST	Coeficiente	0,2057	0,7350	0,5067		0,0277	0,4562
	Valor de p	p=0,384	p=0,000	p=0,023		p=0,908	p=0,043
LPO	Coeficiente	0,5112	-0,3372	-0,0430	0,0277		0,1073
	Valor de p	p=0,021	p=0,146	p=0,857	p=0,908		p=0,653
Dano em DNA	Coeficiente	0,3291	0,2874	0,1759	0,4562	0,1073	
	Valor de p	p=0,157	p=0,219	p=0,458	p=0,043	p=0,653	

3.2.2. Exposição em laboratório

A atividade enzimática da AChE em *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório é apresentada na Figura 11. Na 1ª campanha, houve o aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade comparada ao T0 (Icapuí) em MD1 no 14º dia e em MD2 no 7º dia. Na 2ª campanha houve o aumento significativo da atividade da AChE em MD1, MD2 e nos animais expostos ao sedimentos do Icapuí.

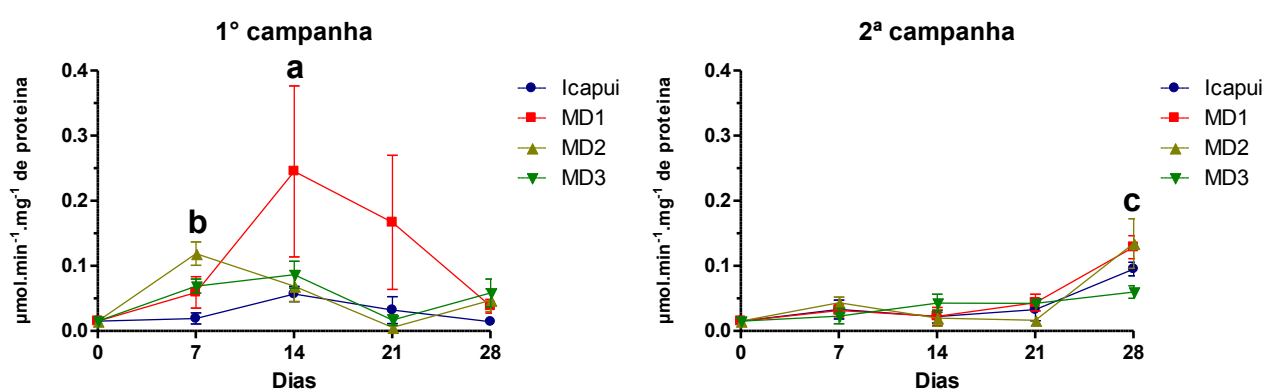


Figura 11 – Atividade enzimática da AChE nas *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório. Diferença significativa de T0 ($p < 0,05$) em: a=MD1 no dia 14; b= MD2 no dia 7 e C = MD1, MD2 e Icapuí no dia 28.

A atividade enzimática da EROD em *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório é apresentada na Figura 12. Diferentemente das campanhas de exposição em campo, não houve diferenças significativas na atividade enzimática da EROD nos animais expostos às amostras de todas as estações nas duas campanhas.

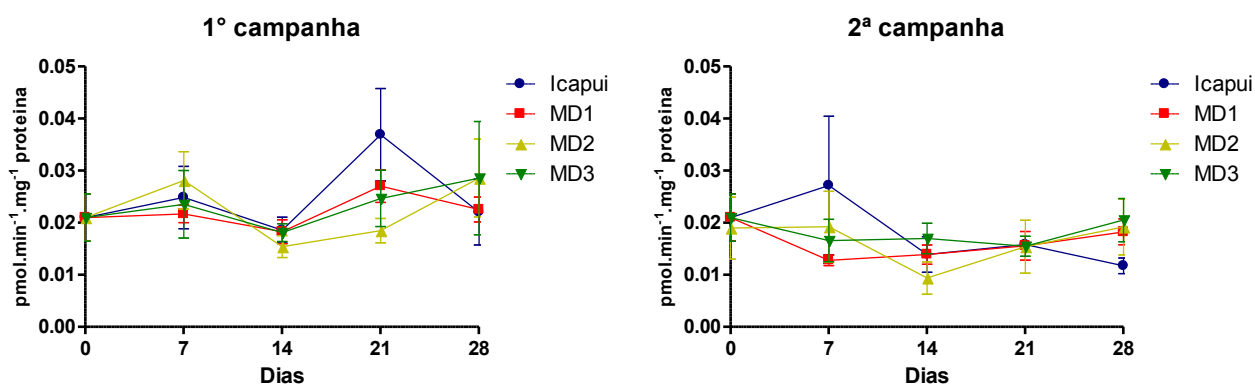


Figura 12 - Atividade enzimática da EROD nas *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório.

A atividade enzimática da GST em *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório é apresentada na Figura 13. Na 1ª campanha, houve o aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade enzimática em relação a T0 em MD1 nos dias 7 e 28. Na segunda campanha, o aumento significativo pode ser observado apenas em MD1 no dia 28.

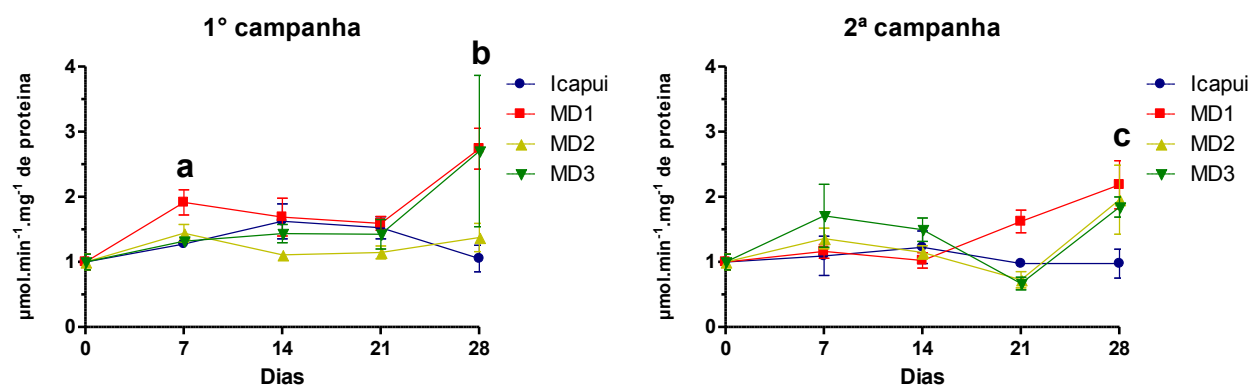


Figura 13 – Atividade enzimática da GST nas *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório. Diferença significativa de T0 ($p < 0,05$) em: a= MD1 no dia 7; b = MD1 no dia 21 e c= MD1 no dia 28.

A atividade enzimática da GPx em *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório é apresentada na Figura 14. Na 1ª campanha, é possível observar o aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade enzimática em relação a T0 em MD1 no 28º dia de exposição. Na 2ª campanha, o aumento significativo em relação a T0 pode ser observado em MD3 no 28º dia de exposição.

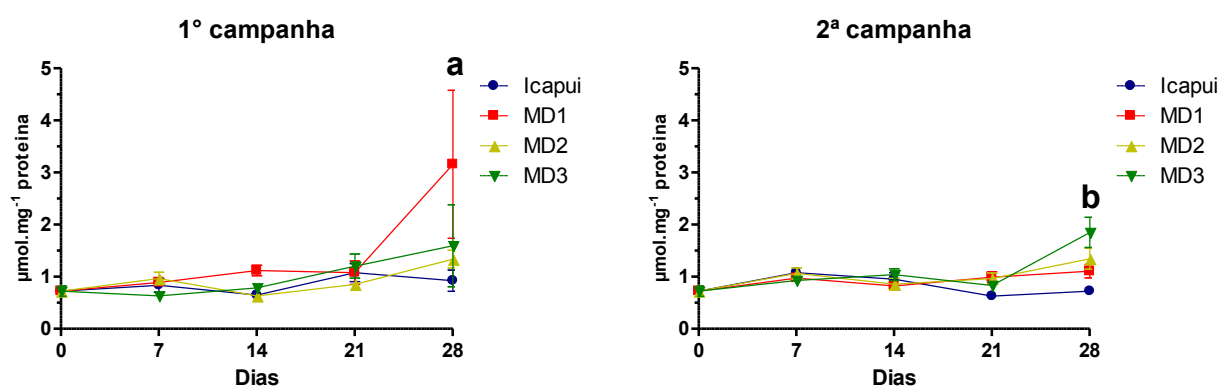


Figura 14 - Atividade enzimática da GPx nas *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório. Diferença significativa de T0 ($p < 0,05$) em: a= MD1 no dia 28 e b= MD3 no dia 28.

A atividade enzimática da GR em *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório é apresentada na Figura 15. Na 1ª campanha, não houve o aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade enzimática em relação a T0 em nenhuma das amostras durante todo o período de exposição. Já na 2ª campanha, foi possível observar o aumento significativo da atividade enzimática em MD1, MD2 e MD3 no dia 28.

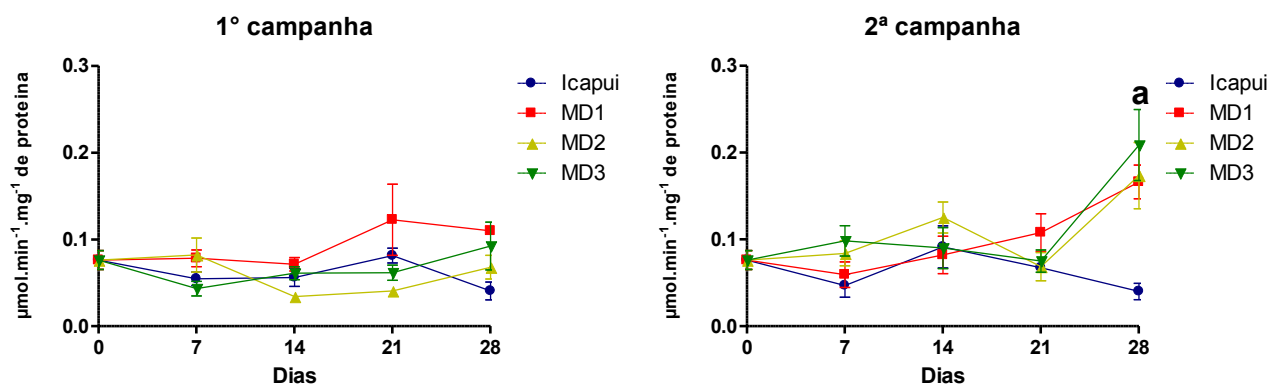


Figura 15 – Atividade enzimática da GR nas *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório. Diferença significativa de T0 ($p<0,05$) em: a= MD1, MD2 e MD3 no dia 28.

Os Resultados da peroxidação lipídica em *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório são apresentados na figura 16. Na 1ª campanha houve o aumento significativo ($p<0,05$) nos animais expostos a amostra MD3 no dia 28. Na 2ª campanha, ouve o aumento significativo da LPO nos animais expostos a amostra Icapuí nos dias 7 e 14.

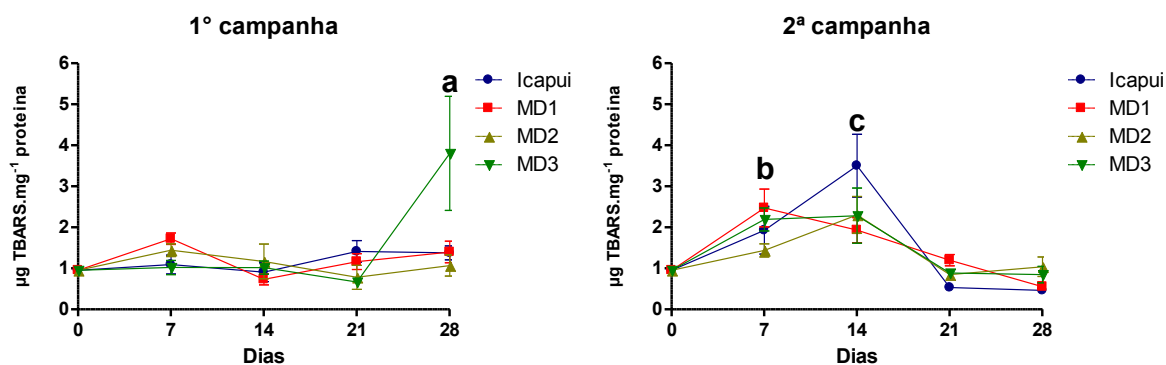


Figura 16 – Peroxidação lipídica nas *A. brasiliiana* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório. Diferença significativa de T0 ($p<0,05$) em: a= MD3 no dia 28; b= Icapuí no dia 7 e c= Icapuí no dia 14.

Os Resultados dos Danos em DNA em *A. brasiliensis* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório são apresentados na Figura 17. Na 1ª campanha, houve o aumento significativo ($p < 0,05$) dos danos em DNA em comparação ao T0 nos animais expostos a amostra MD1 e MD3 no dia 28. Na segunda campanha, houve o aumento significativo dos danos em DNA em MD3 no 21º dia e em MD1 no 28º dia.

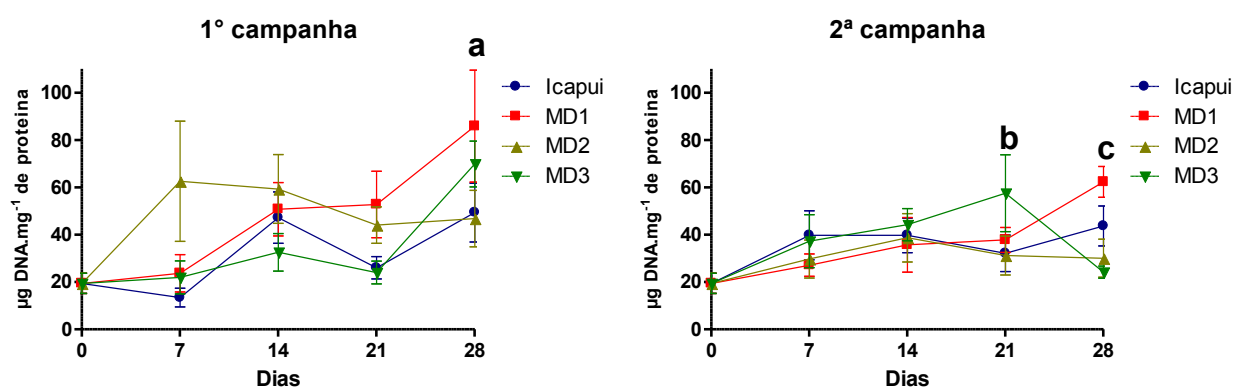


Figura 17 – Danos em DNA (quebra das fitas) em *A. brasiliensis* expostas aos sedimentos do Porto do Mucuripe em laboratório. Diferença significativa de T0 ($p < 0,05$) em: a= MD1 no dia 28; b= MD3 no dia 21 e c=MD1 no dia 28.

A matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores em *A. brasiliensis* expostas as amostras do Porto do Mucuripe em laboratório é apresentada na Tabela 5. Correlações positivas significativas ($p < 0,05$) são observadas entre as atividades das enzimas GST com a AChE, EROD e GR, indicando a exposição a contaminantes e indução de estresse oxidativo. Corroborando esse comportamento, a atividade da GPx esta correlacionada significativamente com a GR e com os Danos em DNA, corroborando que a exposição de contaminantes pode estar induzindo efeitos sobre os organismos nas duas campanhas de exposição.

Tabela 5 – Matriz de correlações de Pearson com as respostas dos biomarcadores em *A. brasiliiana* expostas em laboratório. Correlações significativas em negrito.

Biomarcador	Pearson	Ache	EROD	GST	GPx	GR	LPO	Dano em DNA
Ache	Coeficiente		0,2095	0,6155	0,0145	0,2893	-0,1290	0,2588
	Valor de p		p=0,275	p=0,000	p=0,940	p=0,128	p=0,505	p=0,175
EROD	Coeficiente	0,2095		0,3827	0,2517	0,0122	-0,0287	-0,0044
	Valor de p	p=0,275		p=0,040	p=0,188	p=0,950	p=0,883	p=0,982
GST	Coeficiente	0,6155	0,3827		0,3323	0,5179	0,2560	0,2694
	Valor de p	p=0,000	p=0,040		p=0,078	p=0,004	p=0,180	p=0,158
GPx	Coeficiente	0,0145	0,2517	0,3323		0,4564	0,1043	0,4646
	Valor de p	p=0,940	p=0,188	p=0,078		p=0,013	p=0,590	p=0,011
GR	Coeficiente	0,2893	0,0122	0,5179	0,4564		-0,0057	0,0669
	Valor de p	p=0,128	p=0,950	p=0,004	p=0,013		p=0,977	p=0,730
LPO	Coeficiente	-0,1290	-0,0287	0,2560	0,1043	-0,0057		0,1723
	Valor de p	p=0,505	p=0,883	p=0,180	p=0,590	p=0,977		p=0,372
Dano em DNA	Coeficiente	0,2588	-0,0044	0,2694	0,4646	0,0669	0,1723	
	Valor de p	p=0,175	p=0,982	p=0,158	p=0,011	p=0,730	p=0,372	

3.3. Integração dos Resultados

Os Resultados da integração dos resultados através da análise dos componentes principais (PCA) para os dados da exposição em campo com as variáveis ambientais são apresentados na Tabela 6. Os 3 primeiros eixos explicam 87,94% da variância dos dados e através deles é possível observar as seguintes associações:

- (I) O primeiro eixo explica 60,6% da variância total e representa através de correlações negativas a distribuição dos teores de MPS, sedimentos finos, TOC, N, metais (com exceção do Cd e Cr) e dos contaminantes orgânicos. Na segunda matriz, estão correlacionadas a essa distribuição a toxicidade aguda e as resposta das enzimas GR e EROD (nas brânquias e glândulas) e da LPO e dos danos em DNA nas glândulas digestivas.
- (II) O eixo 2 explica 13,91% da variância e representa através de correlações negativas a distribuição do MPS com CaCO₃, Cd e Cr e através de correlações negativas a distribuição dos LAB. Na segunda matriz estão correlacionados negativamente a atividade

da GR, EROD e LPO nas glândulas, contrastando com a LPO nas brânquias, que apresentou correlação positiva.

- (III) O eixo 3 representa 13,44% da variância e representam através de correlações positivas o MPS e Cr, e correlações negativas entre CaCO₃, N e P. Na segunda matriz são observadas apenas correlações positivas entre a toxicidade crônica e a atividade das GPx e GST.

Tabela 6 – Integração dos dados da exposição em campo baseada nos resultados da PCA. Correlações das variáveis e efeitos biológicos com os eixos e % de contribuição de cada eixo na variância dos dados.

Variável	Matriz 1			Efeito biológico	Matriz 2		
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3		Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
MPS	-0,54	-0,56	0,62	Toxicidade Aguda	-0,71	-0,23	-0,31
Finos	-0,82	0,33	0,22	Toxicidade Crônica	-0,09	-0,27	0,85
CaCO ₃	-0,26	-0,54	-0,78	GR _{Br}	-0,54	0,66	-0,22
TOC	-0,94	0,14	-0,21	GR _{Gl}	-0,68	-0,58	0,25
N	-0,72	-0,21	-0,55	GPx _{Br}	-0,38	0,22	0,58
P	0,52	-0,05	-0,54	GPx _{Gl}	-0,07	0,13	0,52
Al	-0,94	-0,07	0,06	GST _{Br}	-0,30	-0,14	0,70
Fe	-0,99	0,05	0,02	GST _{Gl}	0,05	-0,13	0,72
Cd	0,10	-0,74	-0,36	EROD _{Br}	-0,74	0,00	0,45
Cr	-0,48	-0,61	0,54	EROD _{Gl}	-0,76	-0,50	0,17
Cu	-0,99	-0,01	-0,02	LPO _{Br}	-0,45	0,59	-0,09
Ni	-0,92	0,30	-0,20	LPO _{Gl}	-0,61	-0,67	0,21
Pb	-0,66	0,36	0,15	DNAd _{Br}	-0,41	0,27	-0,16
Zn	-1,00	-0,07	-0,03	DNAd _{Gl}	-0,93	-0,11	-0,06
AH	-0,97	-0,18	-0,02		Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
HPA	-0,97	-0,20	-0,01	Variância (%)	60,6	13,91	13,44
LAB	-0,58	0,59	-0,33	Variância total (%)	60,6	74,51	87,94

A ordenação Bi-dimensional dos Eixos 1 e 2 é apresentada na figura 18. Nela é possível observar a separação da estação MD1 nas duas campanhas das demais estações, incluindo a área referência. No caso desta estação a associação da distribuição dos contaminantes com as respostas dos biomarcadores foi mais significativa. É possível observar também a separação das campanhas pela projeção negativa no eixo 2 das estações da 1ª campanha e pela projeção positiva das estações da 2ª campanha.

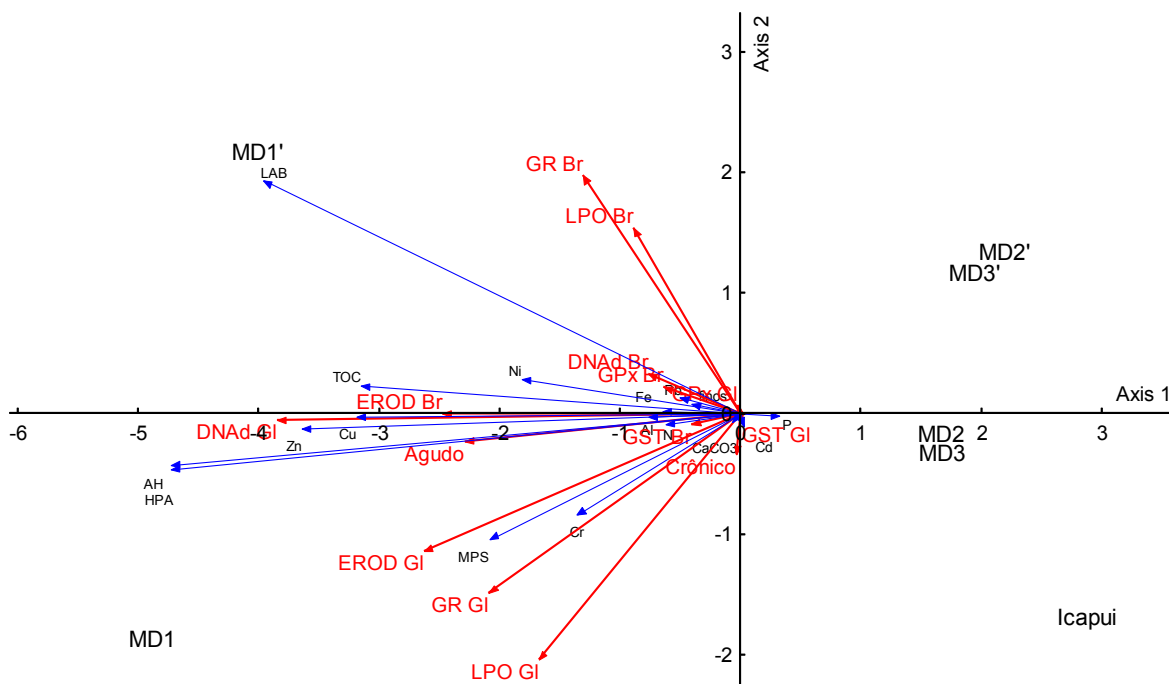


Figura 18 – Ordenação bidimensional dos Eixos 1 e 2 baseado nos resultados da PCA com os dados da exposição em campo.

Os Resultados da integração dos resultados através da análise dos componentes principais (PCA) para os dados da exposição em laboratório com as variáveis ambientais são apresentados na Tabela 7. Os 3 primeiros eixos explicam 87,85% da variância dos dados e através deles é possível observar as seguintes associações:

- (I) Eixo 1 explicando 63,15% da variância dos dados e representando através de correlações negativas áreas mais profundas (deposição) com distribuição do TOC, N, metais (exceto Cd e Cr) e dos contaminantes orgânicos, contrastando com a distribuição do P que apresentou correlação positiva. Na segunda matriz estão correlacionados a essa distribuição a toxicidade aguda de sedimento integral e interface sedimento-água, e as respostas das enzimas GST, GPX e os danos em DNA, além da correlação positiva da EROD.

- (II) O eixo 2, que explica 15,27% da variância e representa através de correlações positivas a distribuição dos CaCO_3 , N, e Cd. Na segunda matriz, os danos em DNA estão correlacionados a esta distribuição, contrastando com as respostas das enzimas AChE e Gr, que apresentaram correlações positivas ao eixo 2.
- (III) O eixo 3 explicando 9,42% da variância e representa através de correlações negativas a distribuição de P, LAB e baixos teores de Cr (correlação positiva). Na segunda matriz são observadas correlações negativas para a toxicidade crônica de interface sedimento-água e das respostas das enzimas AChE e GR, contrastando com a resposta da EROD, que apresentou correlação positivas ao eixo3.

Tabela 7 – Integração dos dados da exposição em laboratório baseada nos resultados da PCA. Correlações das variáveis e efeitos biológicos com os eixos e % de contribuição de cada eixo na variância dos dados.

Variável	Matriz 1			Efeito biológico	Matriz 2		
	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3		Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
Profundidade	-0,81	0,51	-0,09	SI agudo	-0,87	-0,14	0,44
finos	-0,85	0,31	0,03	SI crônico	0,01	0,09	-0,13
CaCO_3	-0,23	-0,90	-0,32	ISA agudo	-0,57	0,40	-0,15
TOC	-0,95	-0,08	-0,16	ISA crônico	-0,23	-0,21	-0,76
N	-0,72	-0,50	-0,33	Ache	-0,23	0,64	-0,50
P	0,50	-0,26	-0,54	EROD	0,50	0,07	0,65
Al	-0,95	-0,09	0,14	GST	-0,60	0,11	-0,02
Fe	-0,99	-0,03	0,04	GPx	-0,53	-0,11	0,43
Cd	0,16	-0,85	0,19	GR	-0,25	0,68	-0,51
Cr	-0,41	-0,19	0,80	LPO	0,27	-0,28	0,07
Cu	-0,99	-0,07	0,05	Danos em DNA	-0,65	-0,50	0,30
Ni	-0,94	0,07	-0,27				
Pb	-0,70	0,41	-0,10				
Zn	-0,99	-0,13	0,08				
AH	-0,96	-0,21	0,14				
HPA	-0,95	-0,21	0,15				
LAB	-0,63	0,21	-0,50				
					Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
				Variância (%)	63,15	15,27	9,42
				Variância total (%)	63,15	78,42	87,85

A ordenação Bi-dimensional dos Eixos 1 e 2 é apresentada na figura 19. Nela é possível observar um agrupamento das estações similar ao agrupamento das estações na exposição em campo, com a estação MD1 nas duas campanhas separadas das demais estações incluindo a área referência, através de projeções negativas no eixo1. Para esta estação os efeitos biológicos associados à distribuição dos contaminantes foram mais significativos.

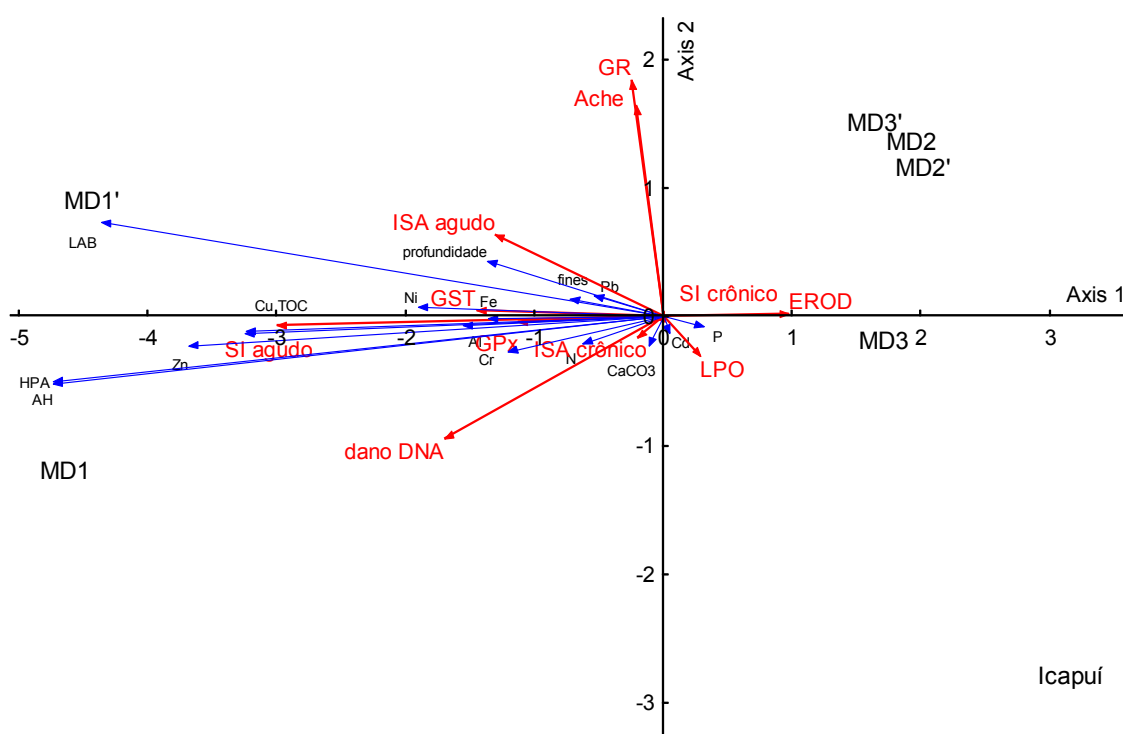


Figura 19 – Ordenação bidimensional dos Eixos 1 e 2 baseado nos resultados da PCA com os dados da exposição em laboratório.

4. Discussão

4.1. Efeitos da dragagem sobre a qualidade ambiental.

Eventos de dragagens e ressuspensão de sedimentos são complexos e em áreas que apresentam fontes difusas de contaminação, diferentes impactos ambientais podem ser associados a essas atividades. A remoção dos sedimentos afeta diretamente os habitats bentônicos pela remoção do substrato e da biota bentônica, levando a defaunação (Bemvenuti, *et al.*, 2005). Durante a dragagem ocorre a formação e lançamento do *overflow*, que é uma mistura de água e sedimentos finos que não são retidos na draga, o qual freqüentemente é devolvido ao ambiente e que leva ao aumento da concentração de material em suspensão e como consequência, os níveis de nutrientes e elementos traços são alterados, causando a diminuição da zona eufótica e comprometendo a produtividade primária (NRC, 1985). Torres *et al.* (2009) observaram que a formação do *overflow* durante a dragagem do canal do Porto de Santos formou uma pluma contaminada, com altas concentrações de Hg e HPA.

Num contexto geoquímico, basicamente ocorrem também alterações no potencial redox dos sedimentos, onde processos de oxidação e mudanças no pH promovem mudanças na especiação química dos contaminantes, como os metais por exemplo, aumentando a sua disponibilidade (Cantwell & Burgess, 2004; Eggleton & Thomas, 2004; Machado *et al.*, 2011) e a formação da pluma, associada a esses processos representam os principais vetores dos riscos de contaminação para a biota.

Cantwell *et al.* (2002) através de experimentos de ressuspensão com sedimentos de Rhode Island em laboratório mostraram um aumento nas concentrações de Cu, Ni e Zn na coluna d'água adjacente na câmara de exposição, além do enriquecimento de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn no MPS e de acordo com os autores a desorção dos metais das partículas de sedimento em detrimento das mudanças do meio e da energia de ressuspensão foram significativas para esse aumento nas concentrações. No Brasil, durante as dragagens do Porto de Santos, Torres *et al.* (2009) observaram o aumento das

concentrações de As, Hg, Zn e HPA no material coletado nas dragas e no material particulado em suspensão provocado pelo *overflow*, relacionando essas concentrações aos sítios dragados.

No caso do Porto do Mucuripe, na 1ª campanha durante as dragagens os níveis de MPS foram altos, o que já era esperado, e considerando os indícios de contaminação discutidos no Capítulo 1 deste estudo, é possível que a ressuspensão dos sedimentos possa ter contribuído para a liberação de compostos na coluna d'água. Tal hipótese pode ser corroborada com as correlações encontradas na PCA entre o MPS com a fração fina, as concentrações dos contaminantes nos sedimentos e a toxicidade da água.

Comparando as concentrações dos contaminantes com as reportadas no capítulo 1 para um período pré-dragagem é possível observar também baixos valores durante a dragagem, exceto para o Pb, AH e HPA em MD1, indicando a remoção dos sedimentos com maiores concentrações de contaminantes. No entanto, os testes de toxicidade evidenciam potencial tóxico dos sedimentos mesmo em baixos níveis de contaminação. Estes resultados diferem dos resultados de Torres *et al.* (2009), que não encontraram toxicidade nos sedimentos de sítios recém dragados. Porém, Choueri *et al.* (2009a) propuseram a faixa de efeitos biológicos para níveis de contaminação nos sedimentos do sistema estuarino de Santos e São Vicente e observaram que os efeitos biológicos ocorrem mesmo em baixas concentrações.

4.2. Resposta dos biomarcadores

Frente a essa situação de ressuspensão de sedimentos foram realizadas exposições em campo e em laboratório para avaliar os riscos de efeitos biológicos pela exposição a eventuais contaminantes através das respostas dos biomarcadores, que são métodos mais sensíveis a esses baixos níveis de contaminação. No caso da exposição em campo, através do uso de animais transplantados é possível avaliar os atuais efeitos de forma a reduzir as limitações dos resultados obtidos apenas por ensaios em laboratoriais (análises químicas e testes ecotoxicológicos) e também variáveis biológicas como variabilidade genética, períodos reprodutivos e metabolismo adaptado que

podem ter uma influência significativa sobre os efeitos avaliados em populações nativas (Regoli & Orlando, 1995; Burton *et al.* 2005).

Sobre as respostas dos biomarcadores, a ativação dos mecanismos de biotransformação (Fase 1) foi avaliada através da atividade da EROD, pertencente ao grupo das oxigenases de função mista (MFO). A atividade da EROD tem sido reportada em espécies marinhas, como poliquetos (Morales-Caselles, 2008), mexilhões (Pereira *et al.* 2011) e berbigões (Silva *et al.*, 2012) como resposta a exposição a contaminantes orgânicos, especificamente os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), bifenilas policloradas (PCB) e compostos de petróleo (Gadhgbui, *et al.*, 1996). Solé *et al.* (1994) observaram em mexilhões e ostras provenientes da costa espanhola a indução da atividade da EROD com elevadas concentrações de HPA.

Neste estudo, a atividade da EROD na 1ª campanha apresentou um aumento significativo nas duas estações. No 28º dia de exposição, a resposta foi elevada em MD1 e MD2 nas brânquias e em MD1 nas glândulas digestivas. Na segunda campanha a resposta foi significativa apenas em MD1 nas brânquias. Estes resultados indicam que a contribuição de contaminantes orgânicos de acordo com a forma de exposição, pois nos experimentos em laboratório não foi observado aumento significativo da atividade da EROD em nenhuma das amostras.

Em relação a atividade da GST, ela foi mais significativa durante a 1ª campanha em MD1 e MD2, correlacionando com atividade da EROD, indicando uma resposta maior durante a exposição aos sedimentos ressuspensos (efeito da dragagem). Já na exposição em laboratório o aumento da atividade foi significativo em MD1 nas duas campanhas e que também apresentou uma correlação significativa com a EROD.

Pereira *et al.* (2011) salientam que a indução da atividade de enzimas da Fase 1 (EROD) juntamente com as da Fase 2 (GST) indicam uma adaptação fisiológica a exposição em ambientes que apresentam contaminantes orgânicos, pois a atividade da GST ao utilizar a glutathiona (GSH) como substrato permite conjugação e a excreção dessas substâncias (Schlenk *et al.*

2008), o que explica a alta atividade encontrada, uma vez que nos bivalves as brânquias representam uma importante via para excreção.

Além disso, de acordo com Vieira *et al.*, (2009), as brânquias também representam a primeira barreira contra a entrada de compostos tóxicos no organismo e no caso a atividade da GST pode ser a primeira tentativa de conter o efeito pela exposição a não apenas contaminantes orgânicos mas também aos metais, pois a biotransformação de conjugados da glutathione reduzida (GSH) catalisada pela atividade da GST, tem a capacidade de se ligar aos metais por conta da sua grande afinidade a essa molécula, diminuindo a sua concentração no meio e evitando a absorção pelo organismo e consequentemente os efeitos tóxicos (Regoli & Principato, 1995). Estes estudos explicam as correlações entre a atividade da GST com as concentrações de metais na exposição em laboratório.

Por outro lado, a indução da atividade da GPx nas brânquias foi significativa nas duas campanhas em MD1 e MD2, enquanto que a atividade da GR apresentou aumento apenas na segunda campanha nas brânquias em MD1. Para a exposição em laboratório, o aumento da atividade da GPx foi significativo em MD1 na 1ª campanha e em MD3 na 2ª campanha enquanto que a atividade da GR foi induzida todas as estações, exceto Icapuí. Estes resultados indicam também uma resposta frente ao estresse oxidativo, pois a GPx age na redução do H_2O_2 , um dos principais reativos de oxigênio (ROS) envolvidas nesse processo (Di Giulio & Meyer, 2008). Na matriz de correlação, a atividade da GPx correlacionou positivamente com a atividade da GR nas brânquias e nos organismos expostos em laboratório, corroborando a ativação dos mecanismos de defesa antioxidantes.

Metais e contaminantes são contaminantes conhecidos por induzir efeitos pró-oxidantes e no caso dos metais, o mecanismo mais importante na geração de ROS esta associado a capacidade deste elementos de perder elétrons e do seu potencial de catálise das Reações de Haber Weiss e Fenton (Regoli & Giuliani, 2013). Essas reações levam a formação do radical hidroxila através da redução de metais oxidados na presença de peróxido de hidrogênio (Shi *et al.*, 2004).

Durante a exposição ao ambiente atmosférico, quando ocorre o fechamento da concha pelos músculos adutores, o metabolismo dos bivalves é submetido a uma condição anóxica e o sistema de enzimas antioxidante é ativado como resposta de prevenção ou compensação dos efeitos causados pelas ROS (Regoli & Principato, 1995). Porém no presente estudos os animais foram transplantados na região de interface sedimento-água e permaneceram submersos, descartando essa possível resposta como falso-positivo.

Além desses mecanismos descritos acima, foi avaliada a atividade da Ache nos organismos expostos aos sedimentos em laboratório. A inibição da atividade da Ache tem sido considerada um dos biomarcadores mais antigos empregado como resposta seletiva pela exposição a pesticidas (organofosforados e carbamatos) e que posteriormente foi descrita também como resposta a outros contaminantes orgânicos, associada a atividade da EROD (Payne *et al.*, 1996; Fulton & Key, 2001). Já a atividade da Ache ao promover a formação de tiocolina e acetato, leva ao aumento do consumo de oxigênio, e por sua vez aumenta a geração de ROS, especificamente o H₂O₂ (Monserrat *et al.* 2007). Neste estudo, essa associação entre a atividade da Ache e as respostas bioquímicas ao estresse oxidativo ficou evidenciada pela correlação da Ache com a GST (na análise de correlação) e com a GR (no eixo 2 da PCA).

Por outro lado, Pereira *et al.* (2007) salientam a hipótese de que em exposições agudas, os metais podem interagir com os receptores colinérgicos e comprometer sua eficiência na ligação com os neurotransmissores, levando a uma indução na síntese da colinesterases. Tal hipótese é corroborada através de estudos conduzidos em mexilhões (*Perna perna* e *Mytilus galloprovincialis*), que mostram a indução da Ache pela exposição aos metais Cd, Pb e Zn (Najimi *et al.*, 1997; Bainy *et al.*, 2006).

No presente estudo, durante a 1ª campanha a atividade da Ache apresentou uma indução significativa em MD1 no 14º dia e MD2 no 7º dia, com redução (inibição) nos dias seguintes enquanto que na 2ª campanha houve a indução apenas em todas as estações no 28º dia de exposição, com uma resposta similar a atividade da GR. Com isso, é possível afirmar que os

resultados encontrados indicam que há uma resposta da AChE a mistura de contaminantes (especialmente metais), com uma contribuição a geração do estresse oxidativo, especialmente em MD1 que apresentou as maiores concentrações dos contaminantes.

Em relação aos biomarcadores de efeito, na exposição em campo, níveis de peroxidação lipídica (LPO) e os danos em DNA estiveram correlacionados com a atividade da GR nas brânquias enquanto que nas glândulas digestivas os níveis de LPO correlacionaram com a EROD e os Danos em DNA com a GST. Na exposição em laboratório, os Danos em DNA correlacionaram com a atividade da GPx. Em condições de estresse oxidativo, quando as ROS e RNS sobrepõem os mecanismos de defesa antioxidantes, diferentes componentes celulares são oxidados (Almeida *et al.*, 2007).

Altos níveis de peroxidação lipídica são reportados como biomarcadores de efeito do estresse oxidativo induzido pela exposição a contaminantes e/ou metabolitos formados por essa exposição, como as ROS (Valavanidis *et al.*, 2006). Nesse processo, as membranas celulares são os principais alvos das ROS que iniciam uma reação autocatalítica de oxidação nessas membranas, gerando hidroperóxido de lipídios como metabólito e que no interior da célula, podem levar a formação de adutos no DNA (Almeida *et al.*, 2007) e comprometer o seu metabolismo, podendo resultar em morte celular (Girotti, 1998). Já a quebra das fitas de DNA representa um dos principais efeitos do estresse oxidativo sobre esta molécula, pois a hidroxila (uma das ROS) tem a capacidade de sequestrar um átomo de hidrogênio do grupamento açúcar do DNA, o que resulta na instabilidade e conseqüentemente quebra das fitas (Ravanat, 2005; Almeida *et al.*, 2007).

4.3. Análise Integrada.

Estabelecer relações de causa-efeito entre os contaminantes e os efeitos biológicos nos ecossistemas constitui os principais desafios nos estudos ecotoxicológicos e avaliações de risco ecológico (Walker *et al.*, 2012). Adams *et al.* (1989) sugerem que para alcançar esse objetivo é importante avaliar os efeitos dessa exposição em diferentes níveis de organização biológica. Bartell

(2006) salienta que o uso dos biomarcadores como indicadores de efeito em nível de sub-organismo o seu uso integrado com indicadores em outros níveis de organização como mortalidade e reprodução, por exemplo, pode fornecer subsídios significativos para aperfeiçoar a caracterização dos riscos ecológicos, reduzindo incertezas quanto à significância das concentrações dos contaminantes.

Nesse contexto, métodos multivariados para integração de variáveis físicas e químicas e dados biológicos têm sido utilizados por diferentes autores em avaliações de efeitos de dragagem e ressuspensão de sedimentos sobre a toxicidade (Torres *et al.*, 2009), resposta de biomarcadores em animais nativos e transplantados (Pereira *et al.*, 2007, 2012; Bocchetti *et al.*, 2008) e respostas de biomarcadores em organismos expostos a sedimentos em laboratório (Morales-Caselles, 2008). No presente estudo foi empregada análise multivariada (PCA) com objetivo de observar associações entre os níveis de contaminação com as respostas dos biomarcadores e testes de toxicidade.

Nos resultados da PCA para os dados da exposição em campo, é possível observar a correlação significativa do MPS e dos contaminantes nos sedimentos (Cu, Ni, Pb, Zn e orgânicos) com a toxicidade aguda das amostras de água e com os biomarcadores de exposição (GR e EROD em ambos os tecidos) e efeito (LPO e DNA nas glândulas). Da mesma forma, para a exposição em laboratório os resultados da PCA apresentaram correlações similares entre os sedimentos finos e dos contaminantes (Cu, Ni, Pb, Zn e orgânicos) com a toxicidade aguda e as respostas dos biomarcadores de exposição (GST e GPx) e efeito (Danos em DNA). Tais resultados indicam claramente que os mecanismos dos biomarcadores discutidos ocorreram como respostas iniciais às formas de exposição, tanto em campo como em laboratório e que tal exposição foi traduzida em efeitos agudos, medidos através da mortalidade dos anfípodos e misídeos nos testes de toxicidade.

Dentre as estações anaçisadas, MD1 que esta sobre maior influência das atividades antrópicas (efluentes industriais e fluxo de embarcações), além de sofrer uma maior deposição de sedimentos finos, apresentou as maiores respostas frente aos níveis de contaminação em ambas as campanhas e

formas de exposição. Já as demais estações, de forma pouco expressiva, porém relevante, também apresentaram respostas e indícios de efeitos e que podem representar importantes indicadores da qualidade ambiental da região do Porto.

5. Conclusões

De modo geral, o uso dos biomarcadores em *A. brasiliiana* como linha de evidência de contaminação permitiu identificar a existência de impactos associados as operações de dragagem do Porto do Mucuripe, principalmente em relação ao potencial tóxico dos sedimentos. Embora a dragagem tenha sido mais intensa durante a 1ª campanha e também os efeitos (resposta dos biomarcadores e toxicidade), durante a 2ª campanha os efeitos biológicos persistiram, indicando que além dos efeitos da remobilização e disponibilização de contaminantes provocados pela dragagem, houve também a contribuição de outras fontes para os efeitos biológicos como o lançamento de efluentes, atividades náuticas e drenagem urbana superficial.

Além disso, foi possível observar também que esses efeitos biológicos significativos ocorreram mesmo em exposição a concentrações mais baixas, comparadas as concentrações encontradas na situação pré-dragagem, indicando a necessidade de entendimento da relação concentração x efeito além do estabelecimento da faixa de concentração para efeitos biológicos para a região.

CAPÍTULO 3: Valores de qualidade sítio-específicos para sedimentos superficiais da região do Porto do Mucuripe.

1. Introdução

Em áreas portuárias, diferentes impactos ambientais podem ser observados como a instalação de cais, berços de atracação e retro-portos em áreas de relevância ecológica e a construção de quebra-mares, que alteram os processos de balanço sedimentar e dinâmica costeira (NRC, 1997). Este último resulta na criação de zonas de baixa energia que possibilitam a atracação de embarcações, e como consequência, passa a ocorrer uma maior deposição de sedimentos finos, provocando assoreamento e redução na batimetria. Por isso, passa a ser necessária, com frequência, a realização de dragagens, que consistem na remoção desse material depositado no fundo, mantendo o calado e a profundidade dos canais de navegação em condições ideais para as operações portuárias (USEPA, 2004).

O problema é que, além disso, dada a proximidade e associação dos portos com grandes centros urbanos e industriais por causa das condições de infraestrutura e logística, as atividades de operação portuária promovem também o risco de contaminação por múltiplas fontes como: (1) pela liberação de lixo, esgotos e outros efluentes; (2) petróleo e seus derivados (pela combustão nos motores das embarcações); (3) por acidentes ou por perdas durante operações de carga e descarga; (4) pelo *runoff* urbano e (5) por substâncias presentes em tintas anti-incrustantes.

Como resultado da liberação de contaminantes, geralmente ocorre o seu acúmulo nos sedimentos (ou na biota), causando problemas ambientais. Entre os grupos de contaminantes relacionados com esses episódios, estão os metais, as bifenilas policloradas (PCB), os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), os pesticidas organoclorados, óleos e graxas, radionuclídeos e os compostos organoestânicos (Casado-Martínez *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2009; Buruaem *et al.*, 2012; Castro *et al.*, 2012), além da emissão de nutrientes (que podem levar à eutrofização) e deposição de matéria

orgânica. No ambiente marinho os contaminantes químicos são adsorvidos ao material em suspensão, ou interagem com sais, carbono orgânico e argilas entre outros processos geoquímicos, depositando-se nos sedimentos, que geralmente apresentam concentrações mais altas em relação à coluna d'água; e assim, esse compartimento ambiental pode constituir não apenas o destino final, mas também fonte secundária de contaminação (Burton e Johnston, 2010).

Diante deste quadro, a contaminação dos sedimentos em ambientes costeiros representa um problema para a gestão ambiental portuária, pois os impactos diretos e indiretos relacionados às atividades de dragagens afetam diretamente duas regiões distintas: as áreas dragadas, impactadas pela remoção de sedimentos, e os sítios de disposição, que são impactados ao receber o material dragado, em especial quando este se encontra contaminado.

Durante as operações de dragagem, a remoção do material afeta diretamente os habitats bentônicos pela remoção do substrato e da biota (Bemvenuti *et al.*, 2005). Além disso, a ressuspensão de sedimentos e o lançamento do *overflow* (mistura de água e sedimentos finos que não são retidos na draga, o qual frequentemente é devolvido ao ambiente) formam plumas onde muitos contaminantes estão remobilizados e podem se tornar biodisponíveis (Torres *et al.*, 2009). Machado *et al.* (2011) demonstraram através de experimentos em laboratório que a ressuspensão de sedimentos da Baía de Guanabara promoveu a mudança na mobilidade do Cu, gerando formas mais reativas deste metal, aumentando a sua biodisponibilidade.

Essa pluma é constituída de sedimentos finos, provocando um aumento da concentração de material em suspensão e conseqüentemente a diminuição da zona eufótica - em função da alta turbidez comprometendo a produtividade primária (Choueri, 2008) e a qualidade da água. Essa situação faz com que áreas dragadas sejam inicialmente desprovidas de fauna, havendo em geral rápida recolonização por espécies oportunistas ou um decréscimo na diversidade e/ou abundância das espécies (Cruz-Motta & Collins, 2004).

Por outro lado, o descarte do material em sítios de disposição marinhos é geralmente a solução final adotada em grande parte dos planejamentos de dragagem, principalmente no Brasil. A possível contaminação dos sedimentos e o soterramento do assoalho representam os principais impactos aos quais essas áreas são submetidas, e dessa forma, também merecem uma atenção especial quanto à avaliação dos seus impactos (Casado Martinez *et al.*, 2006; Sousa *et al.*, 2007; Torres *et al.*, 2009), assim como nos monitoramentos vinculados ao licenciamento das operações (Bertoletti *et al.*, 2008).

Recentemente, Legorburu *et al.* (2013) demonstraram através de ferramentas de Sistema de Informação Geográfica (SIG) a contribuição significativa da disposição de material dragado para o enriquecimento de metais (especialmente Cd, Hg e Pb) em sedimentos superficiais da plataforma continental do Mar Cantábrico (Baía de Biscay) no País Basco, ressaltando a importância do monitoramento dessas fontes para avaliação da extensão dos riscos. Tendo em vista que grande parte das dragagens é realizada em áreas de alta importância ecológica e econômica, tais como baías, canais, enseadas e estuários que provém bens e serviços ecológicos e/ou ambientais, a contaminação desses novos sítios acaba sendo também um problema de gestão ambiental.

A preocupação com os passivos ambientais envolvendo a gestão de sedimentos e material dragado surge na década de 1970, por meio da *Convenção de Londres* em 1972 (<http://www.londonconvention.org>) - a qual o Brasil é signatário - e a *Convenção de Oslo-Paris* (OSPAR - <http://www.ospar.org>), que tinham como objetivo principal a regulamentação da disposição de substâncias nocivas nos oceanos. Porém, como a situação mundial apontava que o volume de material dragado disposto no mar superava qualquer outro material, essas convenções foram estendidas também à regulação dos sedimentos dragados e com isso, medidas preventivas e leis e regulamentações começaram a ser estabelecidas em função dos riscos ecológicos, além da atribuição dos custos da prevenção e controle.

1.1. Critérios e valores-guias de qualidade de sedimentos em áreas costeiras

No caso de sedimentos dragados, obedecendo às leis e regulamentações, é feita a caracterização dos sedimentos considerando apenas o critério químico-específico que consiste na comparação das concentrações encontradas com os valores propostos, os chamados valores de qualidade de sedimentos (VQS). Os VQS visam estabelecer uma relação direta entre as concentrações dos contaminantes com os efeitos biológicos adversos associados à exposição da biota a esse material, estabelecendo níveis de contaminação e qualidade para cada amostra.

Esse tipo de abordagem é importante, pois fornece bases para identificar contaminantes e concentrações ambientalmente relevantes que podem causar efeitos biológicos adversos (Long *et al.*, 2006). Além disso, essa abordagem também é amplamente utilizada devido a sua facilidade e simplicidade de aplicação por parte dos tomadores de decisão, gestores e/ou órgãos reguladores (Chapman *et al* 1999a, 1999b; Burton, 2002).

Os valores de qualidade de sedimento podem ser obtidos através de três abordagens principais: (1) teórica ou mecanística, baseada na teoria do Equilíbrio de Partição (EqP), que consiste no equilíbrio dinâmico entre os compostos dissolvidos na água intersticial e aqueles adsorvidos ao material particulado, fino e/ou à matéria orgânica do sedimento (DiToro *et al.*, 1991); (2) as abordagens empíricas, com a obtenção dos valores através de banco de dados de concentrações de contaminantes e a correspondência dessas concentrações com efeitos biológicos adversos (Batley *et al*, 2005); e por fim (3) os valores de qualidade sítios-específicos obtidos por análises multivariadas de dados de concentrações de contaminantes e efeitos tóxico (Choueri *et al.*, 2009a).

Há ainda a abordagem baseada no consenso entre os VQS (*Consensus-based*) proposto por MacDonald *et al.* (2000) para ambientes dulcícolas e por isso não será abordada nesse estudo. Essa abordagem consiste no estabelecimento de valores gerados pela média dos diferentes VQS e seus

respectivos limiares, uma vez que os diferentes métodos de obtenção geram discrepâncias entre os VQS. Dentre as abordagens empíricas, diferentes metodologias são adotadas dentre as quais podem ser citadas as que determinam intervalos de concentrações de efeitos limiares e prováveis, utilizadas pelas agências ambientais canadenses e americanas (Long *et al.*, 1998; MacDonald *et al.*, 1996).

1.2. Critérios de qualidade de sedimentos obtidos por abordagens teóricas ou mecanística

1.2.1. Equilíbrio de Partição (EqP) para metais

Conforme citado acima, a principal abordagem teórica para obtenção de valores de qualidade de sedimentos é fundamentada na teoria do EqP, que foi primeiramente desenvolvida e implementada pela agência ambiental americana (USEPA) visando gerar as concentrações preditivas de toxicidade sobre organismos bentônicos para os metais Cd, Cu, Ni, Pb, Ag e Zn (USEPA 2000, 2005). O modelo visou descrever procedimentos para o desenvolvimento de concentrações de riscos, ou seja, aquelas que predizem a toxicidade ou a ausência dela (Di Toro *et al.*, 1990) considerando a partição dos metais entre sedimento e a água intersticial, que é primeiramente sintetizada na seguinte equação (1):

$$C_s = K_p \cdot CL_{50} \quad (1)$$

Onde C_s = concentração que causa 50 % de mortalidade (CL_{50}) do metal em sedimentos expressa em $\mu\text{g}/\text{Kg}$; K_p = coeficiente de partição entre a água intersticial e o sedimento (L/Kg); CL_{50} = CL_{50} do metal determinada em água do mar $\mu\text{g}/\text{L}$.

O modelo assume que os sulfetos representam a principal fase de controle da biodisponibilidade de metais tóxicos por meio da sua partição sua na água intersticial. Através da análise dos sulfetos volatilizáveis por acidificação (AVS) e dos metais extraídos simultaneamente (SEM), onde os

AVS se ligam a esses metais, formando sulfetos insolúveis (DiToro *et al.*, 1990; USEPA, 2005). Portanto, quando a concentração molar dos AVS excede a soma molar dos SEM não é esperada a toxicidade e com isso, a aplicação da razão AVS/SEM tem sido utilizada para avaliar o potencial tóxico: quando ela for ≥ 1 há grande probabilidade da amostra não apresentar toxicidade ≤ 1 , há a probabilidade da amostra ser tóxica (Ankley *et al.*, 1996). A partir disso o modelo assume que como os SEM são aqueles extraídos por meio de ácido fraco (HCl 1N), essa fração corresponde aos metais biodisponíveis, levando à integração desse conceito à equação, que agora passa a considerar a razão SEM/AVS (2):

$$\text{SEM} = \text{AVS} + K_p \cdot \text{CL}_{50} \quad (2)$$

Porém, como o carbono orgânico (COT) também representa uma fase importante na partição de contaminantes em sedimentos, o coeficiente de partição água-carbono orgânico (K_{OC}) e as concentrações de COT substituem o K_p , e então a equação segue conforme item (3). Movendo os termos da equação, quando os valores de K_{OC} ou CL_{50} são conhecidos, a seguinte equação (4) pode ser utilizada para predição da toxicidade. Para validar essa teoria, os dados foram determinados por experimentos de exposição de anfípodos e poliquetos a amostras fortificadas com metais (Di Toro *et al.*, 1990; Pesch *et al.*, 1995; Berry *et al.*, 1996) e como muitos deles correspondem a um único metal, situação que não acontece no ambiente, a equação final é dada a seguir (5), considerando a somatória dos SEM. Em suma, se a soma molar dos SEM for menor ou igual à concentração de AVS, para os metais Cd, Cu, Ni, Pb, Ag e Zn as concentrações dessa mistura são aceitáveis para a proteção da vida aquática, e a toxicidade não é esperada.

$$\text{SEM} = \text{AVS} + \text{COT} \cdot K_{OC} \cdot \text{CL}_{50} \quad (3)$$

$$(\text{SEM} - \text{AVS}/\text{COT}) = K_{OC} \cdot \text{CL}_{50} \quad (4)$$

$$\sum \text{SEM} \leq \text{AVS}/\text{COT} \quad (5)$$

1.2.2. Equilíbrio de Partição (EqP) para hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)

Embora mais complexa, a obtenção de VQS através do EqP para HPA leva em consideração apenas parâmetros de toxicidade estabelecidos por ensaios com fases líquidas. A base teórica principal desse modelo é fundamentada na “Teoria de narcose”, que basicamente descreve o comportamento da toxicidade de substâncias narcóticas (incluindo os HPA), com base na ideia de que no organismo os lipídios são os principais sítios alvos desses compostos (DiToro *et al.*, 2000a,b). Com isso, o modelo utiliza uma base de dados de CL50 para 33 espécies aquáticas expostas a mais de 156 compostos e demonstra que: (1) a toxicidade é dependente da partição química; (2) que o comportamento das curvas de dose-resposta é basicamente o mesmo entre as espécies (através do slope); (3) através da normalização dos dados pelo $K_{ow}=1.0$ (solubilidade da água) é possível estabelecer as espécies sensíveis bem como os níveis de carga corporal e (4) a toxicidade para estes compostos é sempre aditiva (USEPA, 2003).

Nos sedimentos, os HPA ocorrem em misturas, que por sua vez também dependem da partição química. Além disso, existe também a limitação da solubilidade, que nos sedimentos é limitada pelos níveis de carbono orgânico (USEPA, 2003). Considerando esses princípios, resumidamente, o cálculo dos valores de referência para qualidade de sedimento é feito primeiramente através do cálculo de referência para um HPA isoladamente através da equação (6):

$$C_{OC,HPA_i,FCV_i} = K_{OC} \cdot FCV_i \quad (6)$$

Onde da C_{OC,HPA_i,FCV_i} é a concentração crítica (ou valor de referência) de um HPA isoladamente, K_{OC} é o coeficiente de partição carbono orgânico:água e FCV , que é o valor de efeito crônico do HPA em questão, cujos procedimentos para obtenção são apresentados em DiToro *et al.* (2000a,b). Por fim, o cálculo do valor de qualidade de sedimentos para as misturas de HPA em unidades tóxicas ($ESBTU_{FCV}$) é feito pela seguinte equação (7), na qual é feita a soma

das razões das concentrações de cada HPA na mistura pelo valor crônico de referência de cada uma:

$$\Sigma \text{ESBTU}_{\text{FCV}} = \Sigma C_{\text{OC,HPAi}} / C_{\text{OC,HPAi, FCVi}} \quad (7)$$

Onde $C_{\text{OC,HPAi}}$ é a concentração de um HPA específico no sedimento normalizado pelo carbono orgânico. Com isso, o valor de referência para qualidade de sedimento para misturas de HPA é considerado de acordo com o valor da equação (7), se a somatória calculada para uma determinada amostra for $\leq 1,0$ ($\Sigma \text{ESBTU}_{\text{FCV}} \leq 1,0$) a concentração das misturas de HPA nessa amostra é considerada aceitável para a proteção da vida aquática e do contrário ($\geq 1,0$), os efeitos tóxicos são esperados.

1.3. Critérios de qualidade de sedimentos obtidos por abordagens empíricas

Os critérios de qualidade de sedimentos obtidos por abordagens empíricas consistem basicamente na obtenção de valores através de extensos bancos de dados de concentrações de contaminantes em sedimentos e a correspondência dessas concentrações com efeitos biológicos adversos. Países como os Estados Unidos (USEPA, 1991), Canadá (EC 2008), Austrália (EA, 2002) e países da Europa (OSPAR, 2008) têm desenvolvido critérios de qualidade de sedimentos baseados em abordagens empíricas, porém os dois principais e que merecem maior destaque são os Estados Unidos e o Canadá, que estabeleceram valores de qualidade baseados em bancos de dados de efeito biológico para sedimento.

1.3.1. Valores de qualidade baseados em bancos de dados de efeito biológicos para sedimento (BDEB).

Desenvolvido por Long *et al.* (1995) junto ao NOAA (National Oceanic Atmospheric Administration), agência federal americana, os valores foram originalmente propostos para nove metais traço, bifenilas policloradas totais

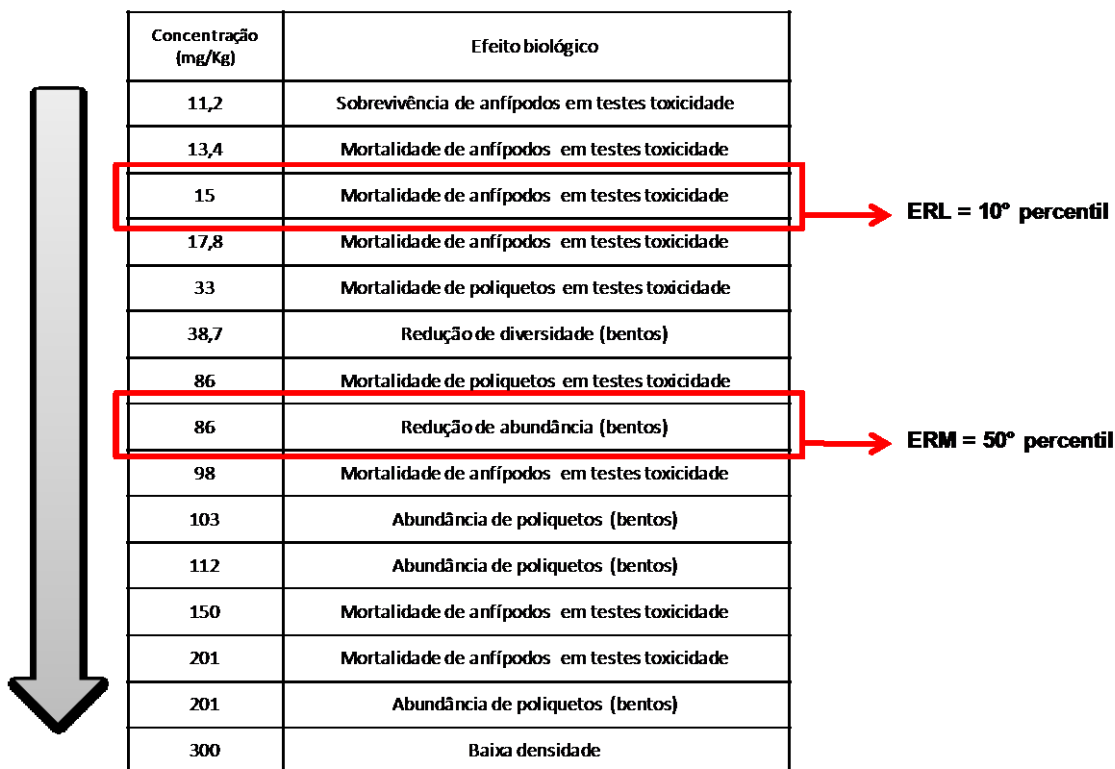
(PCB) e treze HPA. Sobre o banco de dados, ele foi composto por dados disponíveis em aproximadamente 350 publicações científicas e relatórios técnicos, todos conduzidos nos Estados Unidos, toxicidade de sedimentos fortificados com contaminantes (*spiked-sediments*), bioensaios em laboratório e em campo, conduzidos em amostras coletadas simultaneamente para as análises químicas e estudo de efeitos biológicos, o que possibilitou a correspondência dos efeitos com os níveis de contaminação avaliados (Long *et al.*, 1995).

Buscando uma maior abrangência em termos de relevância ecológica, parâmetros de efeito biológicos em diferentes níveis de organização foram considerados no BDEB, como alterações na estrutura da comunidade bentônica (riqueza de espécies e abundância); toxicidade significativa e/ou elevada em diferentes *endpoints*¹; CE₅₀ e/ou CL₅₀ determinadas nos ensaios com sedimentos fortificados; distúrbios histopatológicos em peixes demersais e toxicidade prevista pelo modelo de EqP (Long & Morgan, 1990; Long *et al.* 1995). Sobre as atribuições das concentrações, elas foram basicamente classificadas como “efeito” e “não efeito” onde o efeito foi caracterizado por diferenças significativas e também por correlações dos efeitos com as concentrações analisadas.

Long & Morgan (1990) apresentam detalhadamente a compilação desses trabalhos, bem como a descrição dos parâmetros de efeito biológicos. Os principais critérios para inclusão de dados no banco são: (1) metodologia bem descrita; (2) estudos sem problemas no ensaio de toxicidade (congelamento de amostra, validação de controles); (3) resultados que caracterizam gradientes de contaminação e (4) procedimentos analíticos aceitáveis (5) associação de concentrações ambientais de contaminantes com efeitos tóxicos. Feito isso, a partir dos níveis de contaminação a tabela foi organizada de forma ascendente para subsequente determinação dos valores ou limiares de efeito.

¹ Endpoint – valores derivados em testes de toxicidade que correspondem a medidas específicas feitas ao final do teste, como por exemplos, mortalidade, reprodução, crescimento (Adams & Rowland, 2002).

O primeiro deles corresponde ao 10° percentil, definido como intervalo de menor efeito ou ERL (do inglês *effects range-low*) e o segundo corresponde ao 50° percentil, definido como intervalo de efeito médio ou ERM (do inglês *effects range-median*). A metodologia de aplicação de percentil em dados ecotoxicológicos permite a minimização da influência de anomalias e/ou *outliers* na obtenção desses valores (Klapow & Lewis, 1979). Com isso, o princípio dessa abordagem é estabelecer diferentes níveis de qualidade com base nestes valores, caso a concentração do contaminante se enquadre abaixo do limiar onde ocorrem os menores efeitos (ERL) ela é aceitável, e caso ela se enquadre acima do limiar onde os efeitos médios ocorrem (ERM), ela não é aceitável (Fig 1).



Concentração (mg/Kg)	Efeito biológico
11,2	Sobrevivência de anfípodos em testes toxicidade
13,4	Mortalidade de anfípodos em testes toxicidade
15	Mortalidade de anfípodos em testes toxicidade
17,8	Mortalidade de anfípodos em testes toxicidade
33	Mortalidade de poliquetos em testes toxicidade
38,7	Redução de diversidade (bentos)
86	Mortalidade de poliquetos em testes toxicidade
86	Redução de abundância (bentos)
98	Mortalidade de anfípodos em testes toxicidade
103	Abundância de poliquetos (bentos)
112	Abundância de poliquetos (bentos)
150	Mortalidade de anfípodos em testes toxicidade
201	Mortalidade de anfípodos em testes toxicidade
201	Abundância de poliquetos (bentos)
300	Baixa densidade

Figura 1. Exemplo hipotético de um BDEB com os respectivos valores de ERL e ERM.

Já para o critério canadense, Macdonald *et al.* (1996) questionaram a não utilização de dados não associados aos níveis de contaminação, alegando que esses dados traduzem informações importantes sobre a relação dos contaminantes com os efeitos biológicos (biodisponibilidade, vias e formas de

exposição) e adaptaram a metodologia descrita acima, considerando também esses resultados no BDEB.

A partir disso, o primeiro nível da faixa corresponde ao limiar de efeito ou TEL (do inglês *threshold effect level*), que é a média geométrica do 15º percentil dos dados categorizados como “efeito” associado e 50º percentil dos dados categorizados como “não efeito” associado. Da mesma forma, o segundo valor corresponde ao nível de efeito provável PEL (*probable effect level*), que é a média geométrica do 50º percentil dos dados categorizados como “efeito” associado e 85º percentil dos dados categorizados como “não efeito” associado. Com isso, as categorias de qualidade são determinadas por esses valores, onde a concentração abaixo de TEL corresponde à faixa na qual não são observados efeitos; enquanto que acima de PEL efeitos adversos freqüentemente ocorrem, e entre esses dois valores, efeitos adversos ocasionalmente ocorrem ou há a possibilidade de ocorrência (Fig 2).

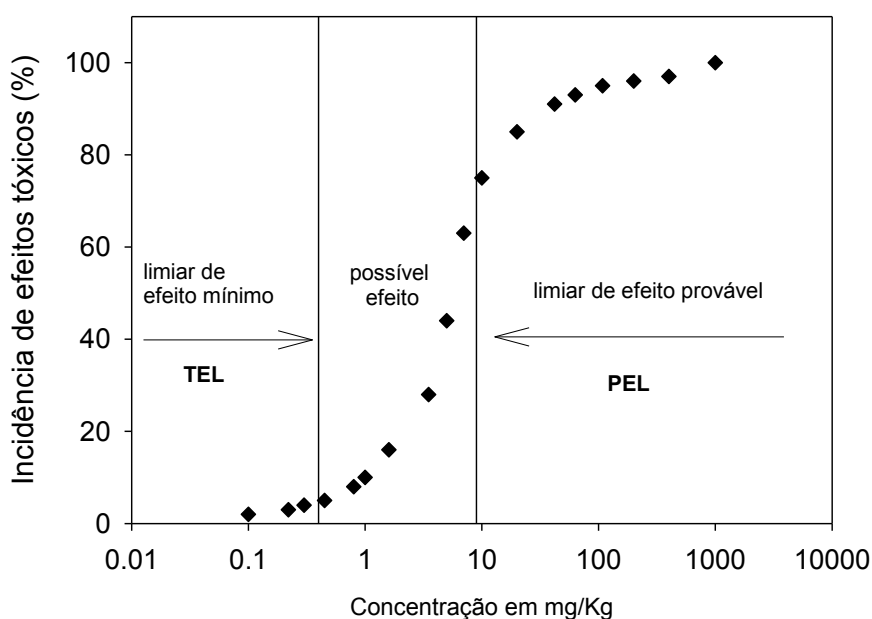


Figura 2 – Curva hipotética de concentrações de contaminantes x incidência de efeitos tóxicos (modificado de Macdonald *et al.*, 1996).

1.4. Valores de qualidade sítio-específicos obtidos por análise multivariada.

Enquanto as abordagens teóricas apresentam limitações em questões como partição geoquímica e medidas de biodisponibilidade, o uso das abordagens empíricas necessita da compilação de extensos bancos de dados, e no caso de países como o Brasil os estudos de sedimentos possuem objetivos e metodologias distintas, limitando a compilação de dados. Em função disso, DelValls & Chapman (1998) desenvolveram uma abordagem para derivar VQS baseados em dados gerados por estudos integrados com amostras coletadas simultaneamente, como a tríade da qualidade dos sedimentos, por exemplo, utilizando dados obtidos para o Golfo de Cádiz (Espanha) e para a Baía de São Francisco (EUA).

Segundo os autores, as principais considerações que formam a base dessa abordagem correspondem a: (1) que os compostos tóxicos têm uma influência sobre os efeitos biológicos medidos e que esta influência é controlada por fatores ambientais; (2) a princípio, os compostos analisados são os responsáveis pelos efeitos adversos, mas, no entanto compostos não medidos também podem causar esses efeitos; (3) como os contaminantes ocorrem em misturas complexas, uma forma de sintetizar essas relações é através da análise exploratória dos dados como, por exemplo, a análise dos componentes principais (PCA).

O fundamento da utilização da PCA é de que o uso de relações lineares (correlações, por exemplo) em estudos de qualidade ambiental em zonas costeiras, associa os níveis de contaminação a uma única fonte, mas na realidade os níveis de contaminação provêm de fontes múltiplas, e com isso as análises multivariadas podem discriminar as influências dos distintos vetores através de diferentes agrupamentos e distribuições espaciais (DelValls *et al.*, 1998b).

A partir disso os dados do Golfo de Cádiz foram organizados em uma matriz contendo as concentrações de 14 metais e alquilbenzenos sulfonados

lineares (LAS), além de carbono orgânico total (TOC) e 6 *endpoints* de diferentes bioensaios com sedimentos como parâmetro de efeito biológico, incluindo mortalidade de anfípodos, larvas de peixes e bivalves, soterramento de bivalves bentônicos e declínio de população de rotíferos, além de parâmetros de comunidade bentônica como riqueza e abundância de espécies, % de poliquetos e diversidade.

Para os dados da Baía de São Francisco a matriz foi composta por 9 metais, HPA de baixo e alto peso molecular, coprostanol, DDT e bifenilas policloradas (PCB) e TOC, 4 *endpoints* de bioensaios incluindo mortalidade de anfípodos, reprodução de copépodos, soterramento de bivalves bentônicos e desenvolvimento larval de bivalves, além de parâmetros de comunidade bentônica, incluindo riqueza, abundância, dominância, % de anfípodos, de moluscos e de poliquetos. Em seguida os dados foram submetidos à análise de PCA do tipo fatorial.

Nessa análise, através de associações das distribuições espaciais dos dados, o conjunto de dados foi sintetizado em grupos de variáveis que correspondem aos fatores, e que explicaram mais de 90% da variação dos dados originais da matriz original. Para cada fator, coeficientes de correlações foram obtidos para cada caso (estação de coleta). Com isso, considerando que um coeficiente de correlação de 0,4 (positivo ou negativo) corresponde a uma aproximação de mais de 65% da correlação com a matriz original, esse valor foi então utilizado para associar os efeitos biológicos aos níveis de contaminação.

Como nesse tipo de análise um índice de contribuição dos fatores é gerado para cada estação, os chamados *scores*, esse índice é o parâmetro principal para obtenção dos valores de qualidade: quando o *score* do fator que apresentar correlações entre contaminantes e efeitos biológicos for menor que zero ou menor que os fatores que não apresentam tais correlações, as maiores concentrações de contaminantes dessa estação representaram as concentrações não associadas a efeitos, ou seja, o limiar abaixo do qual os efeitos biológicos não são esperados. De maneira semelhante, os limiares

acima dos quais são esperados efeitos corresponderam às menores concentrações das estações que apresentaram scores acima de 1 para os fatores que representaram contaminação e efeitos biológicos associados.

No caso da Espanha, Riba *et al.* (2004b) derivaram VQS sítio específicos para portos da região Atlântica da costa da Espanha utilizando o método da PCA do tipo fatorial, e posteriormente Casado-Martínez *et al.* (2006) salientaram que embora a regulamentação para material dragado fosse feita desde 1994, a utilização de abordagens ecotoxicológicas não foi levada em consideração para a tomada de decisão e além disso, os autores compararam o uso de diferentes VQS, no caso o Canadense (ERL e ERM), níveis de ação 1 e 2 da legislação espanhola (CEDEX 1994) e os valores sítio específicos para sedimentos da costa Atlântica da Espanha obtidos por Riba *et al.* (2004b).

Nesta comparação os autores mostraram a aplicabilidade dos valores sítio específicos para classificação dos sedimentos, levando em consideração as limitações do método, tornando essa abordagem uma alternativa interessante à ausência de extensos bancos de dados para obtenção dos VQS com base em uma análise mais criteriosa.

1.5. Valores de qualidade de sedimentos no Brasil: histórico das regulações.

No Brasil, a questão da qualidade dos sedimentos não foi historicamente considerada como sendo de grande relevância, de modo que os sedimentos, incluindo aqueles de áreas portuárias, vêm recebendo grande quantidade e variedade de contaminantes. A partir dos estudos de Abessa (1996), Casarini *et al.* (1997) e, segundo Abessa (2002), da divulgação na mídia da ocorrência de alta incidência de peixes com alterações morfológicas e tumores na região do Porto de Santos, no fim da década de 1990, essa questão começou a ser considerada com mais atenção. Tal fato levou à paralisação das dragagens do Porto de Santos em função de disposição não controlada do material, por meio

de uma ação civil publicada e perpetrada pelos Ministérios Públicos Estadual e Federal, sendo retomada posteriormente em 2005 (Choueri, 2008).

Os conflitos iniciados na esfera econômica e sócio-ambiental geraram discussões importantes, que acabaram levando à elaboração da Resolução CONAMA 344/04 (Brasil, 2004), que tratava do gerenciamento de sedimentos dragados no país e de protocolos para o licenciamento dessas atividades. De acordo com essa resolução, aspectos geoquímicos deveriam ser levantados para a caracterização preliminar dos sedimentos em questão, sendo exigida a análise química de uma série de substâncias. Os resultados obtidos devem ser comparados com os VQS apresentados na resolução, que correspondem a 2 valores limiares (Níveis 1 e 2, respectivamente), que indicam 3 categorias de contaminação para cada substância analisada: (1) concentração abaixo do “Nível 1” que indica boa qualidade em relação ao contaminante avaliado, com baixa probabilidade de efeitos adversos à biota; (2) concentração acima do “Nível 2” que indica grande probabilidade de efeitos adversos à biota; e (3) concentração entre os níveis 1 e 2 que indica possibilidade da contaminação causar efeitos adversos (Brasil, 2004).

Porém, a simples comparação dos dados químicos com valores orientadores, conforme exigido pela legislação, não é suficiente para uma estimativa real dos efeitos biológicos dos contaminantes, por isso mesmo tais valores têm caráter apenas orientativo e não mandatório na gestão de sedimentos. Além disso, a principal limitação dessa legislação são os VQS, que correspondem aos valores aplicados por órgãos ambientais canadenses e norte-americanos (ERL e ERM), e conforme já discutido, tais valores foram obtidos com base nas concentrações dos sedimentos dessas regiões, que possuem condições ambientais distintas do litoral brasileiro, o que leva a necessidade da obtenção dos VQS com base em estudos produzidos nacionalmente.

Uma das conseqüências disso é a falha da legislação em prever impactos relacionados com a toxicidade. Abessa *et al.* (2006) mostraram que para o Estuário de Santos, mais de 75% das amostras de sedimentos cujas

concentrações de contaminantes estavam acima do nível 1 foram tóxicas e sugeriram a necessidade de estudos complementares durante a fase de caracterização dos sedimentos, o que reafirma uma atenção especial na aplicação desses valores para a costa brasileira, onde existe a particularidade regional na composição dos sedimentos das plataformas internas e externas.

Lacerda & Marins (2005), por exemplo, apontam diferenças na composição dos sedimentos da plataforma do Nordeste e Sudeste do Brasil, havendo a dominância de sedimentos ricos em material clástico na região Sudeste em relação a Nordeste, a qual é particularmente rica em carbonatos de cálcio e sedimentos arenosos; sendo que diferenças como essas são importantes para a compreensão dos processos que atuam sobre a distribuição dos contaminantes nos sedimentos e sua relação com processos biológicos de exposição e disparo de efeitos.

Outro estudo importante relacionado aos VQS no Brasil foi realizado por Choueri *et al.* (2009a) que gerou valores sito-específicos para o sistema Estuarino de Santos e São Vicente, Baía de Paranaguá e Golfo de Cádiz (Espanha), através de análises multivariadas de dados de concentrações de contaminantes e efeitos biológicos (toxicidade e comunidade bentônica). Neste estudo, os VQS foram consideravelmente menores que os reportados na Resolução CONAMA 344/04, o que mais uma vez remete a falha desses valores em prever os efeitos tóxicos.

Recentemente foi publicada a Resolução CONAMA 454/12 (Brasil, 2012) que substituiu a Resolução 344/12. A resolução apresenta importantes avanços no que diz respeito à especificação de aspectos que até então eram incipientes na antiga resolução, como as exigências para caracterização do meio físico, informações sobre batimetria e georreferenciamento da área e também a definição do volume a ser dragado. Além disso, recomendações dos métodos de extração e detecção a serem utilizados para caracterização química, incluindo exigências de limite detecção também são mencionados. É aberta ainda a possibilidade de inclusão de grupos de contaminantes não

contemplados na resolução, com os respectivos VQS a serem estabelecidos pelo órgão ambiental licenciador.

Porém sobre a caracterização do material dragado através dos VQS, a resolução apresenta apenas as seguintes atualizações: a elevação do nível 1 do As (de 8,2 para 19 mg/Kg); elevação dos Níveis 1 e 2 para o Hg (de 0,15 a 0,71 para de 0,3 a 1,0 mg/kg); elevação do valor alerta para soma dos HPA (de 3000 para 4000 µg/Kg) além da inclusão do Tributilestanho (TBT) na relação dos contaminantes em potencial. É importante ressaltar que essas atualizações contrariam as recomendações para criação de valores nacionais feitas por Abessa *et al.* (2006) e Choueri *et al.* (2009a), e portanto a resolução apresenta um caráter mais permissivo quanto a eventuais riscos ecológicos associados a esses níveis de contaminação.

A partir desses valores, a caracterização ecotoxicológica deverá ser feita apenas nas seguintes situações: (1) quando a concentração de HPA de alto peso molecular, As, Cd, Pb ou Hg for superior ao Nível 1; (2) quando a concentração de HPA de baixo peso molecular estiver entre os Níveis 1 e 2, desde que a soma das concentrações individuais de todos os HPA presentes na amostra seja maior que o valor orientador para a soma dos HPA; (3) a concentração de qualquer contaminante for superior ao Nível 2. Além disso, o órgão ambiental pode requerer a caracterização ecotoxicológica em conjunto com a descrição química, se considerar necessário.

Embora a nova resolução permita a inclusão de diferentes linhas de evidência para caracterização ecotoxicológica como os estudos histológicos, ecológicos e de biomarcadores (ver Chapman & Hollert, 2006), o critério químico-específico ainda prevalece sobre os critérios ecológicos nessa nova resolução. E ainda, quanto aos efeitos tóxicos, eles só são considerados significativos quando a toxicidade afetar mais do que 50% dos organismos expostos durante os ensaios de toxicidade.

Essa recomendação contraria a utilização do teste de hipótese para caracterização de efeitos tóxicos de sedimentos, metodologia que é

amplamente utilizada e recomendada inclusive pelas normas nacionais (Long *et al.*, 1998; ABNT 2006, 2007). Em termos práticos isso pode significar uma flexibilização do critério, uma vez que as justificativas para recomendação não são claras e contraria o conhecimento técnico-científico sobre a significância dos dados ecotoxicológicos.

É importante mencionar também que a tomada de decisões privilegiando aspectos econômicos frente a recomendações técnico-científicas é preocupante. No Canadá esse retrocesso tem sido caracterizado pelo desmonte das legislações e redução no orçamento de verbas destinadas a centros de pesquisas e ONG, no sentido de atender (sob o pretexto de impulsionar) a expansão da exploração dos recursos naturais por corporações multinacionais, colocando em risco os recursos hídricos e a biodiversidade do País, conforme alertado por Wells (2013).

.Por fim, a resolução apresenta recomendações para realização de estudos de bioacumulação considerando apenas como subsídios para aprofundamento do conhecimento sobre o material a ser dragado, e não como linha de evidência, além do monitoramento da área de disposição, para casos de disposição oceânica dos sedimentos.

2. Objetivos

Considerando a necessidade do avanço do conhecimento sobre os efeitos biológicos associados à exposição a sedimentos contaminados ao longo do litoral brasileiro, e não exclusivamente em áreas portuárias, o objetivo principal deste estudo é apresentar valores de qualidade sítio-específicos para amostras coletadas no Porto do Mucuripe de forma a gerar dados sobre a associação entre as concentrações ambientais de contaminantes e efeito tóxicos. Para atender a este objetivo, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Amostragem de sedimentos na região do Porto do Mucuripe após as operações de dragagem, para avaliação das concentrações de contaminantes e toxicidade dos sedimentos;
- Obtenção dos VQS através da análise integrada das concentrações encontradas com os efeitos biológicos (toxicidade) utilizando análise multivariada, conforme item 1.4., a partir de dados obtidos em todas as campanhas de coletas apresentadas neste estudo: pré, durante e pós dragagem.

3. Materiais e Métodos

3.1. Coleta de sedimentos

Ao final das operações de dragagem, foi realizada uma campanha para amostragem de sedimentos, em 22 de agosto de 2010, considerando 9 estações correspondentes às estações de M1 a M9 da campanha pré-dragagem (capítulo 1). As amostras de sedimento foram coletadas com auxílio de um amostrador do tipo *van Veen* para realização de testes de toxicidade, caracterização sedimentológica e análise química dos contaminantes. A coleta foi realizada a bordo da embarcação SOLDADO I e os procedimentos de coleta e armazenamento das amostras são os mesmos descritos no Capítulo 1 desta tese.

3.2. Análises sedimentológicas e químicas dos sedimentos.

A determinação das frações granulométricas foi feita através do peneiramento úmido das amostras secas (50g) em malha de 63 μm para separação da fração fina (silte+argila). A estimativa dos teores de carbonato de cálcio (CaCO_3) foi feita seguindo o método de digestão e gravimetria descrito por Gross (1971). Já a determinação dos teores de matéria orgânica (MO) foi feito através do método de combustão e gravimetria (Luczak *et al.*, 1997). Os resultados foram expressos em %. A concentração de carbono orgânico total (TOC) das amostras foi obtida através do analisador de carbono orgânico total (TOC –V CPH Shimadzu) acoplado com módulo para amostras sólidas (SSM – 5000^a Shimadzu). As análises de nitrogênio total (N) e fósforo total (P) foram feitas através do método colorimétrico descrito por Grasshoff *et al.* (1999), quantificados em espectrofotometria.

As análises das concentrações de metais em sedimentos foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Costeira do LABOMAR, sob a coordenação da Prof^a. Dr.^a Rozane Valente Marins. Os teores de metais foram determinados na fração total das amostras secas através do método de Digestão Assistida por Microondas EPA 3051A (USEPA, 1996). A leitura da concentração dos metais Al, Fe, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn nos extratos foi feita

em um Espectrofotômetro de Absorção Atômica em Chama modelo com correção com lâmpada de deutério para análise de Pb, Ni e Hg. Para validação do procedimento de extração e leitura foram analisadas, em triplicatas, amostras do material de Referência SRM 2704 – (*Buffalo River Sediment*) e SRM-1646a (*Estuarine sediments BRC® 667*).

Análises das concentrações hidrocarbonetos alifáticos (AH), policíclicos aromáticos (HPA) e alquilbenzenos lineares (LAB) foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica Marinha do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IOUSP), coordenado pela Prof^a. Dr.^a Márcia Caruso Bícego. Nesta análise, extratos das amostras de sedimento foram preparados em Soxhlet com uma mistura 50% diclorometano/n-hexano, seguindo a metodologia descrita em UNEP (1992). Os extratos foram então fracionados por cromatografia em coluna de sílica-gel e alumina. As concentrações de AH foram determinadas por cromatografia gasosa 6890 da Agilent Technologies com detector de ionização de chama (GC-FID), enquanto as concentrações de LAB e HPA foram quantificadas em um cromatógrafo a gás Agilent 6890 acoplado a um espectrômetro de massa 5973N (GC/MS) no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM).

3.3. Testes de toxicidade com sedimentos

Nos testes de toxicidade com sedimentos, foram empregadas duas formas de exposição: teste agudo de sedimento integral e teste crônico com interface sedimento-água. O teste de toxicidade de agudo com sedimento integral empregado consistiu na utilização do anfípodo escavador *Tiburonella viscana* como organismo-teste segundo a Norma técnica NBR 15638 (ABNT, 2002), cujo procedimento foi descrito no capítulo 1 deste estudo. Já o teste crônico empregado foi o de curta duração com as larvas do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*, conforme a Norma Técnica NBR 15350 (ABNT, 2006) utilizando o sistema-teste proposto por Anderson *et al.* (2001) e adaptado por Cesar (2003) para realização em pequenos volumes, conforme descrito no capítulo 1 deste estudo.

Para análise estatística, os dados foram comparados com o sedimento controle empregando o teste t'Student. Antes da aplicação, os dados foram submetidos à avaliação do tipo de distribuição (normalidade) pelo teste do Chi-quadrado e, homogeneidade de variâncias, pelo teste de Fisher. Para estas análises, foi utilizado o software TOXSTAT - versão 3.5[®] (West & Gulley, 1996). As amostras diferentes significativamente do controle foram consideradas **tóxicas** ($p < 0,05$) e as que não apresentaram diferença significativa foram consideradas **não tóxicas**.

3.4. Organização dos dados e análise multivariada para obtenção dos VQS.

Resultados das campanhas foram organizados em uma única matriz de dados de acordo com a seguinte denominação: amostras de M1 a M10 (amostras coletadas em 08/2007), MD1 a MD3 (coletadas em 01/2011) e MD1' a MD3' (coletadas em 07/2011) e M1b a M9b (coletadas em 08/2011). A localização das estações é apresentada na figura 3.

Os dados foram organizados em uma matriz contendo a fração fina dos sedimentos, os teores de carbonatos, os níveis de COT, N e P, concentrações dos metais Al, Fe, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn além das concentrações de AH, HPA e LAB. Os dados expressos em % foram transformados através da função arco-seno possibilitando a comparação com os dados contínuos e em seguida todos os dados da matriz foram normalizados pela função $\log(x+1)_{10}$ visando reduzir diferenças de grandeza entre as variáveis. Em seguida os dados foram submetidos à análise de componentes principais do tipo fatorial (PCA-AF). As análises foram feitas através do programa STATISTICA 8.0 (StatSoft, 2007).

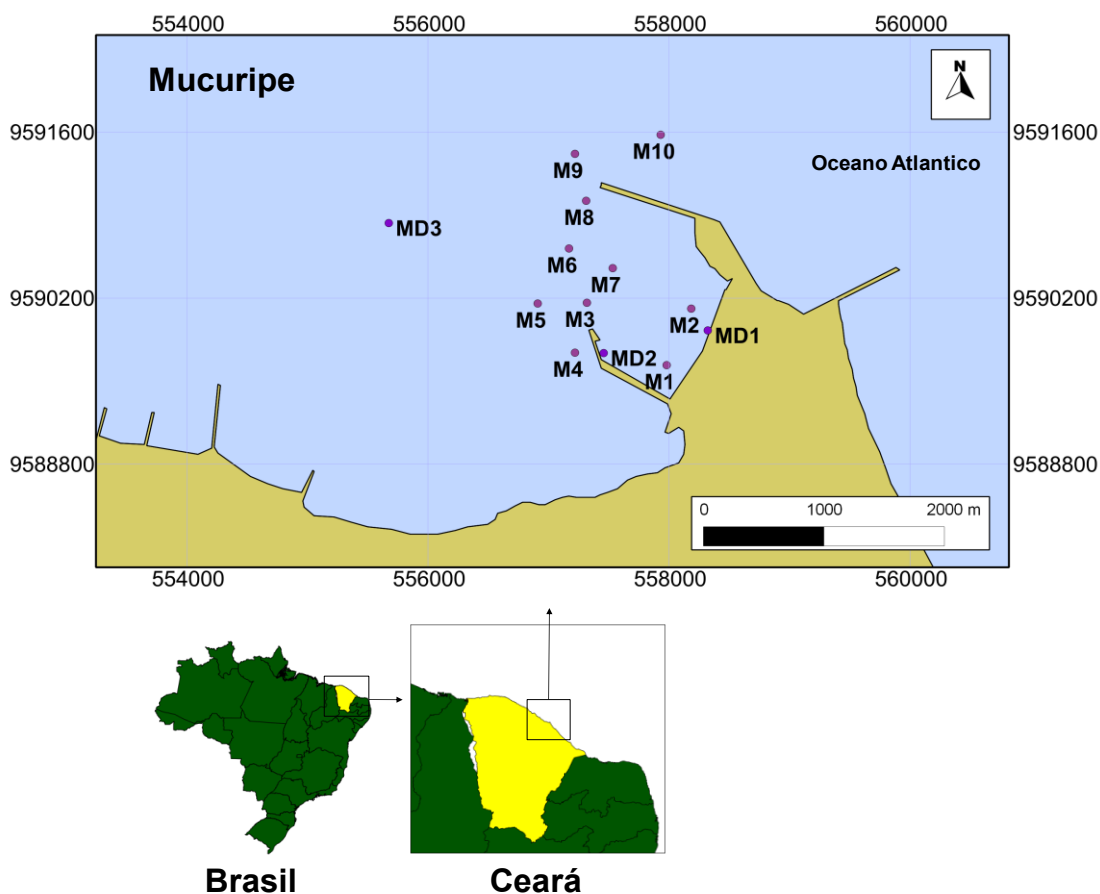


Figura 3 – Estações de coleta de sedimentos para obtenção dos VQS do Porto de Mucuripe.

Nesta análise, o conjunto de dados foi sintetizado em grupos fatores, utilizando o método de Análise de Componentes Principais (PCA). Foram extraídos os 3 primeiros fatores e que explicaram mais de 85 % da variação dos dados. Com esse procedimento, coeficientes de correlação das variáveis com cada fator foram obtidos, o que possibilitou observar associações entre as variáveis. Em seguida, com o objetivo de simplificar a redução das variáveis em fatores foi aplicada a rotação do tipo *varimax*, que alterna as coordenadas no plano multidimensional. A partir desse procedimento foi feita a projeção das correlações das variáveis para cada estação em valores denominados *scores* que podem ser interpretados como contribuição de cada fator para a variância dos dados.

Para obtenção dos VQS foi adotado o procedimento similar ao descrito por DelValls & Chapman (1998) e Choueri *et al.* (2009a), no qual foi adotado o nível de corte de $|0,38|$ nas correlações das variáveis com os fatores, para identificar associações entre as concentrações dos contaminantes e efeitos biológicos (Tabachnic & Fidell, 1996). Com isso, os fatores que representaram essas associações e que tiveram um *score* negativo ou menor que os fatores que não apresentam tais associações (correlação $\geq 0,38$), as maiores concentrações dessa estação representaram o **nível 1**, onde abaixo dele efeitos biológicos não são esperados. De maneira semelhante, o **nível 2** são valores acima dos quais os efeitos são esperados, e corresponderam às menores concentrações que apresentaram *scores* acima de 1 para os fatores que representaram contaminação e efeitos biológicos.

4. Resultados e Discussão

Os resultados das análises sedimentológicas, químicas e ecotoxicológicas das amostras do Porto do Mucuripe para obtenção dos VQS são apresentados na tabela 1. Nela é possível observar que para as amostras coletadas após a dragagem, houve um aumento na quantidade de sedimentos finos de M1 a M8, provavelmente associada à deposição do material particulado ressuspenso durante as operações de dragagem (ou do *overflow*). A mesma distribuição pode ser observada para N e o P, detectados em níveis relativamente altos, comparados com aqueles detectados na campanha de 2007.

Em relação aos metais, não houve uma variação significativa das concentrações de Al, Fe, Cd e Ni, enquanto que as concentrações de Cr e Zn detectadas foram menores. Por outro lado, houve um aumento das concentrações de Pb, AH, HPA e LAB. Os resultados dos testes de toxicidade de sedimento integral indicaram efeito tóxico agudo sobre a sobrevivência dos anfípodos nas amostras de M1 a M6 e efeitos crônicos na interface sedimento-água sobre o desenvolvimento das larvas de ouriço nas amostras de M1 a M8, indicando que apesar da redução das concentrações de alguns metais, associados com a toxicidade no capítulo 1, a indução de efeitos tóxicos pela exposição as amostras persistiu.

Tabela 1- Resultados das análises sedimentológicas, químicas e toxicidade das amostras do Porto do Mucuripe para obtenção dos VQS.

Estação	Finos (%)	CaCO ₃ (%)	COT (%)	N (%)	P (%)	Al (%)	Fe (%)	Cd (µg/g)	Cr (µg/g)	Cu (µg/g)	Ni (µg/g)	Pb (µg/g)	Zn (µg/g)	AH (µg/g)	BPM-HPA	APM-HPA	HPA (ng/g)	LAB (ng/g)	SI (%)	ISA (%)
M1	24,03	18,28	0,94	NM	0,23	2,90	1,94	0,90	38,00	13,82	16,54	2,59	469,33	25,36	17,96	59,91	77,87	<0,85	*66,67	*78,25
M2	7,86	30,26	1,43	NM	0,25	2,42	2,39	0,85	38,10	15,46	19,89	6,69	535,82	19,09	41,57	66,21	107,78	<0,85	*66,67	*90,50
M3	22,74	25,05	0,96	NM	0,42	2,49	1,85	1,41	32,32	11,20	16,66	3,58	399,58	17,60	15,70	43,95	59,65	<0,85	*43,33	*92,00
M4	2,42	34,96	1,40	NM	0,40	3,13	2,47	0,64	50,13	16,76	21,49	2,60	583,51	21,15	34,01	53,91	87,92	5,84	*50,00	*97,50
M5	15,56	15,72	0,44	NM	0,48	0,87	0,80	<0,60	13,45	3,71	6,95	<2,00	199,46	1,06	3,51	24,44	27,95	<0,85	*40,00	*75,75
M6	16,74	26,60	1,11	NM	0,35	3,36	1,99	0,60	41,48	12,13	17,78	2,54	420,90	2,46	9,03	27,70	36,73	1,35	*30,00	*96,75
M7	5,45	22,19	0,85	NM	0,27	1,70	1,66	<0,60	26,89	9,77	15,24	2,06	365,65	13,48	5,90	37,54	43,44	<0,85	*26,67	*82,25
M8	0,59	9,41	0,16	NM	0,11	0,30	0,29	<0,60	5,23	0,49	7,20	<2,00	62,64	1,01	<1,00	<1,00	<1,00	<0,85	26,67	23,50
M9	0,08	5,74	0,18	NM	0,09	0,16	0,13	<0,60	3,33	0,40	2,00	<2,00	25,03	0,46	<1,00	<1,00	<1,00	<0,85	16,67	8,00
M10	0,00	8,58	0,22	NM	0,10	0,20	0,28	<0,60	5,16	1,01	5,29	<2,00	41,98	0,34	<1,00	<1,00	<1,00	<0,85	6,67	8,50
MD1	62,16	25,29	0,49	0,60	2,76	0,96	1,06	0,16	25,94	13,64	8,04	21,99	25,79	655,53	303,65	856,78	1160,43	<0,85	*93,33	*99,00
MD2	19,08	5,45	0,07	0,19	2,08	0,24	0,25	0,16	15,51	1,41	1,57	15,93	2,45	0,99	<1,00	2,96	2,96	<0,85	*56,67	*63,25
MD3	10,02	18,44	0,06	0,43	4,01	0,25	0,26	0,15	13,43	1,56	2,23	19,44	2,84	0,76	<1,00	<1,00	<1,00	<0,85	36,67	*87,00
MD1'	63,51	17,61	0,69	0,51	2,50	0,96	1,08	0,15	2,51	11,11	10,06	22,92	20,97	408,47	295,21	395,67	690,88	91,62	*70,00	*100,00
MD2'	44,40	7,64	0,04	0,37	3,52	0,06	0,14	0,14	2,00	2,03	4,24	13,89	1,10	0,54	<1,00	<1,00	<1,00	<0,85	16,67	*100,00
MD3'	13,36	13,56	0,06	0,36	3,60	0,08	0,21	0,14	2,00	2,18	3,52	22,43	2,14	0,48	<1,00	<1,00	<1,00	<0,85	26,67	*100,00
M1b	90,18	23,22	1,91	0,86	2,50	2,03	1,39	0,17	13,96	20,44	15,25	21,37	27,71	219,26	152,42	414,06	566,48	42,32	*56,67	*100,00
M2b	68,89	19,33	1,38	0,68	2,98	1,89	1,25	0,18	11,73	16,86	11,52	65,89	25,05	586,45	1592,83	2450,01	4042,84	110,90	*90,00	*100,00
M3b	78,67	22,38	0,47	0,50	2,19	1,94	1,17	0,18	13,22	7,66	10,75	13,21	12,13	22,74	23,33	38,81	62,14	<0,85	*53,33	*100,00
M4b	88,18	13,36	0,93	0,60	2,68	1,89	1,47	0,55	13,55	12,10	12,77	17,04	16,54	22,96	27,32	73,22	100,54	8,68	*90,00	*100,00
M5b	95,36	31,92	1,53	0,61	2,81	2,09	1,64	0,28	4,31	9,91	14,49	20,53	18,60	27,96	69,64	82,42	152,06	11,10	*53,33	*100,00
M6b	73,02	19,60	0,16	0,39	2,31	0,83	0,91	0,23	<2,00	5,54	7,19	23,28	9,08	16,97	7,56	39,59	47,15	<0,85	*86,67	*100,00
M7b	56,86	21,14	0,57	0,19	2,70	1,02	1,01	0,14	15,81	7,42	8,60	24,51	11,17	8,95	5,38	24,59	29,97	3,87	36,67	*100,00
M8b	45,83	14,05	0,27	0,32	3,30	0,66	0,75	0,18	<2,00	6,64	6,73	10,54	8,71	1,44	10,75	25,15	35,90	<0,85	26,67	11,69
M9b	1,86	9,79	0,04	0,26	2,54	0,08	0,14	0,15	<2,00	3,18	2,29	8,42	1,03	0,95	<1,00	<1,00	<1,00	<0,85	26,67	19,50

*=amostra tóxica (p<0,05).NM= não medido

Já para a obtenção dos VQS sítio-específicos, os resultados da análise de PCA do tipo fatorial e as correlações de Pearson das variáveis com cada fator são apresentados na tabela 2. Os três primeiros fatores explicam 87,06% da variância total dos dados, onde cada um representa as seguintes associações:

- (i) Fator 1 explicando 55,43% das variâncias, representando através de correlações positivas a deposição de matéria orgânica, COT os metais Al, Fe, Cu e Ni, além da distribuição dos AH, LAB e HPA (de alto e baixo peso molecular) e correlacionados a esses sedimentos, os testes de toxicidade de SI.
- (ii) Fator 2 explicando 24,46% das variâncias e representa através de correlações positivas a deposição de sedimentos finos, nutrientes (N e P) com o Pb e com a toxicidade aguda e crônica.
- (iii) Fator 3 explicando apenas 7,17% das variâncias e representa através de correlações positivas a distribuição de matéria orgânica, CaCO₃, COT, Al, Fe, Cd, Cr e Zn associados com a toxicidade aguda e crônica.

A projeção dos fatores calculados para cada estação (*scores*) é apresentada na Tabela 3. O Fator 1, que representa a associação da toxicidade com as concentração de contaminantes, foi importante na distribuição dos dados da campanha de 2007 de M1 a M7 (maiores valores de *scores*), com contribuição também para as amostras coletadas em 2011 de M1b a M7b, sendo essas com contribuição maior dos fatores que representam altas concentrações de contaminantes como os metais no Fator 2 (de MD1 a MD3 e de M3b a M9b) e os contaminantes orgânicos no Fator 3 (MD1', M1b, M2b e M5b).

A partir desses resultados foi possível obter os VQS sítio-específicos para o Porto do Mucuripe, apresentados na Tabela 4. Para o COT e nutrientes, a faixa de efeito não foi considerada, uma vez que as concentrações observadas podem ser associadas como co-ocorrência com os contaminantes e, além disso, as normas internacionais também não contemplam esses

elementos nos respectivos critérios, apresentando apenas recomendações de valores de referência (Long *et al.*, 1995; OSPAR, 2008). Para os metais o Fator 1 possibilitou obter a faixa de concentração através dos resultados das amostras de M1 a M7. No caso dos contaminantes orgânicos, como o fator 3 foi maior que 1 em MD3', M1b e M2b e estas estações apresentaram toxicidade nas duas campanhas, as concentrações de AH, HPA e LAB destas estações foram importantes para o estabelecimento da faixa de efeito.

Tabela 2 - Resultado da análise de PCA do tipo fatorial e correlações de Pearson das variáveis com cada fator. Correlações em negrito

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3
finos	0,29	0,80	0,39
OM	0,61	0,21	0,66
CaCO ₃	0,39	0,14	0,77
COT	0,70	-0,18	0,64
N	0,26	0,90	-0,25
P	0,06	0,96	-0,14
Al	0,54	-0,08	0,80
Fe	0,53	-0,03	0,83
Cd	-0,03	-0,03	0,80
Cr	0,11	-0,26	0,79
Cu	0,59	0,24	0,71
Ni	0,52	-0,16	0,77
Pb	0,30	0,90	-0,17
Zn	0,26	-0,67	0,68
AH	0,85	0,31	0,29
LAB	0,82	0,28	-0,08
BPM-HPA	0,91	0,20	0,30
APM-HPA	0,86	0,19	0,41
HPAs tot	0,86	0,21	0,43
SI	0,49	0,52	0,45
ISA	0,19	0,62	0,59
Variância %	55,43	24,46	7,17
Variância cumulativa %	55,43	79,89	87,06

Tabela 3 – Projeções dos fatores (*scores*) calculados para cada estação de coleta.

Estação	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Estação	Fator 1	Fator 2	Fator 3
M1	-0,13	-0,71	1,38	MD1'	2,00	0,51	-0,91
M2	0,02	-0,66	1,53	MD2'	-1,47	1,07	-0,72
M3	-0,55	-0,53	1,73	MD3'	-1,43	1,12	-0,52
M4	0,31	-0,97	1,37	M1b	1,64	0,55	-0,05
M5	-0,22	-0,80	0,13	M2b	2,52	0,67	-0,66
M6	-0,44	-0,79	1,50	M3b	-0,12	0,76	0,49
M7	0,21	-1,16	0,58	M4b	0,29	0,89	0,58
M8	-0,32	-1,45	-0,93	M5b	0,73	0,75	0,28
M9	-0,07	-1,79	-1,83	M6b	-0,26	1,13	0,13
M10	-0,03	-2,16	-1,58	M7b	-0,22	0,69	0,27
MD1	0,96	0,79	0,15	M8b	0,04	0,16	-0,68
MD2	-1,13	0,67	-0,63	M9b	-0,79	0,23	-1,34
MD3	-1,54	1,01	-0,27				

Tabela 4 – Valores de qualidade de sedimentos sítio-específicos (VQS) calculados para sedimentos do Porto do Mucuripe.

Variável	efeito não esperado		efeito provável	
	Nível 1		Nível 2	
Cd (μgg^{-1})	0,6		1,41	
Cr (μgg^{-1})	25,94		26,89	
Cu (μgg^{-1})	-		12,10	
Ni (μgg^{-1})	-		14,49	
Pb (μgg^{-1})	22,43		65,89	
Zn (μgg^{-1})	62,64		365,65	
AH (μgg^{-1})	25,36		219,26	
BPM-HPA (μgg^{-1})	5,84		42,32	
APM-HPA (μgg^{-1})	41,57		152,42	
HPA (ngg^{-1})	66,21		395,67	
LAB (ngg^{-1})	107,78		566,48	

Nesta etapa do estudo, os valores de qualidade de sedimentos (VQS) sítio específicos foram obtidos para amostras do Porto do Mucuripe e estes valores determinam o intervalo de concentração de efeitos (esperado e provável) para os compostos em questão, baseados em efeitos tóxicos medidos em laboratório. A tabela 5 apresenta uma compilação dos VQS aplicados para ambientes costeiros a partir das legislações de diferentes países como os EUA (Long *et al.*, 1995) e Canadá (Macdonald *et al.*, 1996; EC, 2008), Espanha (CEDEX, 1994), UK, Irlanda, Alemanha, Bélgica e Holanda (OSPAR, 2008) além da China (Chapman *et al.*, 1999a), Austrália (EA, 2002) e Brasil (valores da nova resolução – Brasil, 2012). A tabela apresenta também os VQS sítio-específicos obtidos para a Baía de São Francisco e Golfo de Cádiz (DeValls & Chapman, 1998), além dos Estuários de Santos-São Vicente e Paranaguá (Choueri *et al.*, 2009a).

Uma breve comparação dos valores permite observar uma variação nas faixas de concentração. Boa parte dos VQS das legislações internacionais (inclusive a brasileira) gera faixas similares aos valores americanos e canadenses como é o caso da Austrália, Irlanda e China. Por outro lado, as legislações dos países europeus (Espanha, UK, Alemanha e Bélgica) apresentam intervalos maiores. Conforme mencionado neste texto, diferentes metodologias podem ser empregadas para obtenção de VQS e a variação encontrada pode ser considerada um reflexo da utilização de diferentes abordagens (MacDonald, 2000; Choueri *et al.*, 2009a).

Os valores americanos e canadenses (ERL/ERM e TEL /PEL) foram gerados a partir dos BDEB citados na seção 1.3. No Caso da França, dados geoquímicos gerados por amostras coletadas entre 1986-1990 foram organizados em distribuição de Gaussiana e os VQS gerados pelas medianas: 2 vezes a mediana para AL1 e 4 vezes a mediana para AL2 (OSPAR, 2008). De forma similar, o critério Espanhol também leva em consideração os aspectos geoquímicos (DeValls *et al.*, 2004; OSPAR, 2008). Para Alemanha, a obtenção desses valores foi similar, onde dados de sedimentos contaminados coletados entre 1982 e 1992 e a media das concentrações dos metais foram

multiplicadas por 1,5 e o 90° percentil para orgânicos, foram estabelecidos como valores de referência, correspondendo ao AL1. O valor AL2 é então determinado multiplicando o AL1 por 5 para os metais e multiplicando por 3 para os orgânicos.

Já no Reino Unido (UK) e Irlanda para metais, os níveis de *background* foram usados para estabelecimento do AL1 e os limiares de AL2 validados através de ensaios Ecotoxicológicos. Já para os HPA, os valores estabelecidos foram arbitrados (OSPAR, 2008). Na Holanda, os valores de AL1 correspondem aos valores máximos de concentrações naturais dos sedimentos do Mar do Norte, enquanto que os valores de AL2 foram gerados através de ensaios ecotoxicológicos e análises químicas.

Quando a comparação é feita entre os VQS e os VQS sítio-específicos, as diferenças são ainda maiores, o que indica um caráter mais permissivo das legislações internacionais contrastando com os VQS sítio-específicos que são mais restritivos, pois produzem limiares com valores menores ao integrar os efeitos biológicos. Além disso, conforme discutido acima, os VQS aplicados em legislações em países principalmente da Europa são gerados por análises químicas de sedimentos contaminados, o que contribui na produção dessas altas faixas.

A comparação dos VQS sítio-específicos obtidos para o Porto do Mucuripe apresenta aspectos importantes. O Primeiro deles é a concordância entre os valores obtidos para os metais Cd, Cr, Cu e Pb por Choueri *et al.* (2009a) para sedimentos do Sistema Estuarino de Santos - São Vicente e Paranaguá. Porém, no caso dos metais Ni e Zn, os valores são similares aos apresentados na Resolução CONAMA 454/12. No caso dos HPA, a faixa de efeito é próxima a faixa obtida para Santos, onde as fontes de contaminação são similares (atividades náuticas, portuárias e efluentes industriais).

Tabela 5 - Compilação dos VQS aplicados em diferentes países.

Local	Limiar	Cd (μgg^{-1})	Cr (μgg^{-1})	Cu (μgg^{-1})	Pb (μgg^{-1})	Ni (μgg^{-1})	Zn (μgg^{-1})	HPA (ngg^{-1})	autor
EUA	ERL	1,2	81	34	46,7	20,9	150	4022	Long <i>et al.</i> (1995)
	ERM	9,6	370	270	218	51,6	410	44792	
Canadá	TEL	0,68	52,3	18,7	30,2	15,9	124	870	MacDonald <i>et al.</i> (1996)
	PEL	42,8	160	108	112	42,8	271	8040	
Brasil	Nível 1	1,2	81	34	46,7	20,9	150	4000	Brasil, (2012)
	Nível 2	7,2	370	270	218	51,6	410	-	
Austrália	Nível 1	1,5	80	65	50	21	200	4000	EA (2002)
	Nível 2	10	370	270	220	52	410	45000	
China	AL1	1,5	80	65	75	40	200	4022	Chapman <i>et al.</i> (1999)
	AL2	9,6	370	270	218	-	410	44792	
França	AL1	1,2	90	45	100	37	276	-	Ospar (2008)
	AL2	2,4	180	90	200	74	552	-	
Espanha	AL1	1	200	100	120	100	500	-	Ospar (2008)
	AL2	5	1000	400	600	400	3000	-	
UK	AL1	0,4	40	40	50	20	130	100000	Ospar (2008)
	AL2	2	400	400	500	200	800	-	
Irlanda	AL1	0,7	120	40	60	21	160	4000	Ospar (2008)
	AL2	4,2	370	110	218	60	410	-	
Alemanha	AL1	2,5	150	40	100	50	350	1000	Ospar (2008)
	AL2	12,5	750	200	500	250	1750	3000	
Bélgica	AL1	2,5	60	20	70	70	160	70000*	Ospar (2008)
	AL2	7	220	100	350	280	500	180000*	
Holanda	AL1	0,8	100	36	85	35	140	8000	Ospar (2008)
	AL2	4	120	60	110	45	365	-	
EUA	V1	-	110	68	49	88	156	-	DeValls & Chapman (1998)
	V2	-	134	98	115	94	225	-	
Espanha	V1	0,51	-	209	260	-	513	-	DeValls & Chapman (1998)
	V2	0,96	-	979	270	-	1310	-	
Cádiz	V1	0,65	-	20,8	21,6	8,9	138	97	Choueri <i>et al.</i> (2009a)
	V2	1,2	-	169	76	42,3	360	100	
Santos	V1	-	-	-	10,3	3,89	37,9	163	Choueri <i>et al.</i> (2009a)
	V2	0,75	65,8	69	22,1	21,2	110,4	950	
Paranaguá	V1	-	27,85	6,55	17,63	10,98	26,95	20	Choueri <i>et al.</i> (2009a)
	V2	-	48,8	6,55	17,63	19,1	41,33	30	
Mucuripe	Nível 1	0,60	25,94	-	22,43	-	62,64	107,78	Este estudo
	Nível 2	1,41	26,89	12,1	65,89	14,49	365,65	566,48	

AL1 = valor alerta 1, limiar efeito possível; AL2 = valor alerta 2, limiar efeito provável; V1 = VQS 1, limiar efeito possível; V2 = VQS 2, limiar efeito provável.

*= valores normalizados pelos valores de COT.

O objetivo da aplicação dos VQS é a caracterização dos sedimentos quanto ao seu nível de contaminação e potencial tóxico. Considerando que os contaminantes ocorrem em misturas complexas, Fairey *et al.* (2001) propuseram o uso dos quocientes dos VQS, como método para representar a ocorrência dessas misturas com base nas violações dos VQS, correlacionando-os com a ocorrência de efeitos tóxicos. Esse método consiste na normalização das concentrações encontradas pelo respectivo valor limiar de efeito tóxico provável (ERM, PEL, Nível 2) para cada contaminante, sendo em seguida calculada a média desses valores gerando um índice, o mVQS. Os autores observaram uma variação de 0,002 a 100, e que índices acima de 1 apresentam toxicidade para 68% das amostras e quando o índice esteve acima de 3,5 a toxicidade foi observada em 100% das amostras, o que indica uma relação de aumento do efeito tóxico associado ao aumento das concentrações. A partir desse índice a classificação das amostras quanto ao nível de contaminação é proposta pelo método a seguir:

- (i) Contaminação mínima: sedimentos não contaminados, com valores de mVQS entre 0 e 0.1;
- (ii) Contaminação Moderada: níveis de contaminação que podem ocasionalmente induzir efeitos tóxicos, com valores de mVQS entre 0.1 e 0.25;
- (iii) Forte contaminação: níveis de contaminação que provavelmente induzem efeitos tóxicos com valores de mVQS acima de 0,25.

Ainda segundo os autores, a aplicação dessa abordagem é feita assumindo as seguintes condições: (1) que a toxicidade se dá por processos aditivos, não considerando sinergismo e antagonismo, embora reconhecendo que há evidências desses processos no ambiente; (2) que todos os compostos têm mesmo mecanismo de toxicidade, pois são validados pelo mesmo *endpoint*, não sendo possível a sua aplicação para prever bioacumulação; (3) casualidade, quanto à natureza da contaminação (contaminante prioritário) e (4) risco relativo de toxicidade, pois esse método assume que locais com

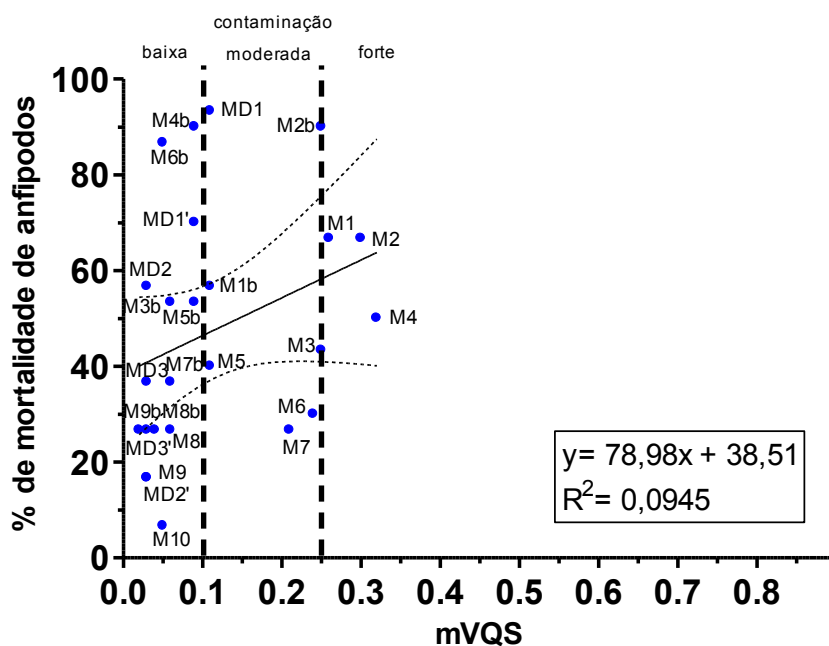
características ambientais distintas tenham a mesma probabilidade de apresentarem efeitos tóxicos.

Já em relação às limitações do uso dessa abordagem, as questões principais são: (1) é difícil estabelecer um nível de corte, ou seja, encontrar uma concentração correspondente à toxicidade para 100% das amostras, ou até mesmo um valor a partir do qual a toxicidade se manifeste; (2) a utilização dos mVQS deve ser acompanhada de outras linhas de evidência e seu uso não deve ser feito isoladamente; (3) o uso é limitado apenas para os contaminantes que apresentam VQS e (4) os mVQS não são considerados critérios de qualidade, e por isso, não são considerados em normativas ou protocolos para avaliação da qualidade de sedimentos (Long *et al.*, 2006).

A Figura 4 contém a projeção dos valores de mVQS calculados para as amostras do Porto do Mucuripe x toxicidade (% de mortalidade dos anfípodos), utilizando os valores contidos na resolução CONAMA 454/12 e VQS sítio específicos e aplicando o critério de classificação das amostras segundo Fairey *et al.* (2001). A partir da comparação dos gráficos é possível observar uma linearidade dos dados com a aplicação dos VQS sítio-específicos, onde os baixos valores de mVQS correspondem as amostras não tóxicas, evidenciando o aumento do potencial tóxico com o aumento das concentrações além da aplicabilidade dos VQS sítio-específicos. Já em relação aos valores contidos na Resolução CONAMA 454/12 é possível observar a falha em prever a toxicidade, pois parte das amostras tóxicas foram agrupadas entre os níveis de contaminação de baixa a moderados.

Long *et al.* (1998) compararam a eficiência dos VQS obtidos por bancos de dados cruzando os mVQS com os resultados dos teste de toxicidade de 1068 amostras e mostraram que os limiares possuem uma boa aplicabilidade. Posteriormente, Long *et al.* (2006) apontaram que, por relacionar o grau de complexidade das misturas químicas, a aplicação dos mVQS oferece a vantagem de indicação de contaminantes em níveis preocupantes e magnitude das violações, o que pode auxiliar na identificação de áreas prioritárias para tomada de decisão, bem como em planos de remediação.

CONAMA 454/12



VQS sítio-específicos

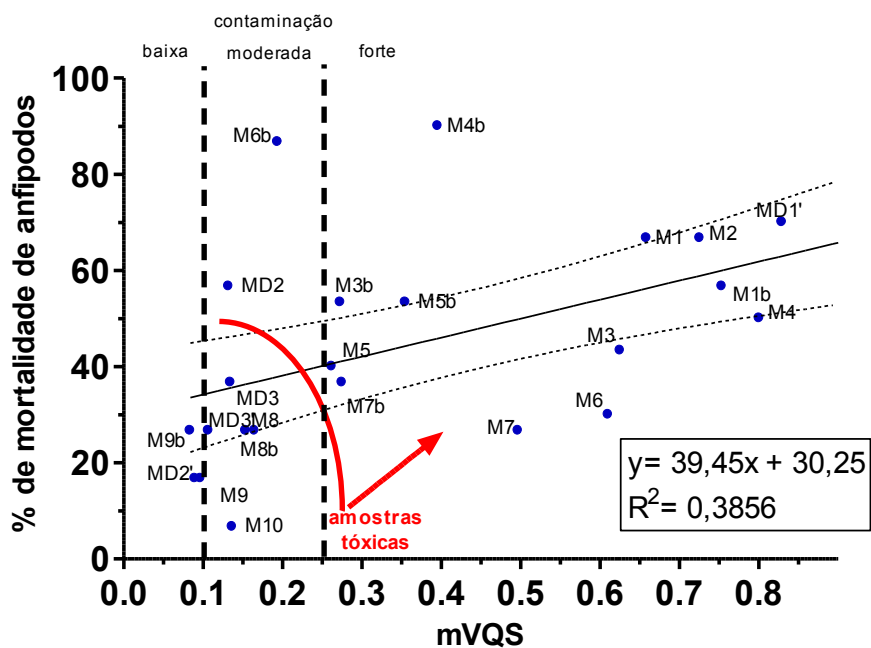


Figura 4 – Dispersão das mVQS x % de mortalidade de anfipodos nas amostras coletadas no Porto o Mucuripe.

5. Conclusões

Uma vez que os critérios químico-específicos são amplamente utilizados, os principais métodos para obtenção de VQS foram apresentados, assim como as características de cada um. Enquanto as abordagens teóricas possuem a limitação de considerar apenas o EqP como controlador da disponibilidade de contaminantes, as abordagens empíricas são restritas a quantidade de dados disponíveis na literatura para compor os BDEB. Em caso de países que possuem grandes volumes de dados como os EUA e Canadá, essa abordagem representa uma boa alternativa para caracterizar não apenas o material dragado, mas também sedimentos contaminados enquanto que a adoção de valores de outros países pode não ser a solução mais interessante, pois ela produz uma interpretação inacurada (e potencialmente incorreta) a respeito dos riscos relacionados a contaminação, o que pode levar a uma tomada de decisão com base em informações errôneas.

Para países em desenvolvimento como o Brasil, a necessidade de obtenção de valores baseados em estudos locais é ainda mais prioritária. Nesta etapa do estudo, VQS sítio-específicos foram obtidos para o Porto do Mucuripe através da associação das concentrações de contaminantes com resultados de testes de toxicidade através de análises multivariadas. Os valores obtidos foram comparados com legislações nacionais e internacionais e apresentaram níveis de efeito muito mais baixos, demonstrando um caráter mais restritivo em relação aos padrões internacionais.

Por fim, os VQS auxiliam no avanço do conhecimento das questões em toxicidade de sedimentos ao longo do litoral brasileiro, onde ainda existe uma grande carência de estudos e diagnósticos da qualidade dos sedimentos não apenas das áreas portuárias. Com um maior conhecimento dos níveis de contaminação ao longo da costa, bem como os efeitos biológicos relacionados a eles, é possível então a geração de um BDEB para o Brasil e conseqüentemente a obtenção de valores locais e/ou sítio-específicos, de forma subsidiar as atualizações dos valores nacionais, tornando-os mais efetivos.

Referências Bibliográficas

- Abessa, D.M.S. 1996. Testes de toxicidade de sedimentos da região de Santos-SPBrasil, (24S,46W), utilizando o anfípodo escavador *Tiburonella viscana* (Crustacea- Platyischnopidae) Thomas & Barnard (1983). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. São Paulo, SP. 97p.
- Abessa, D.M.S. 2002. Avaliação da qualidade dos sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil. Tese de Doutorado.São Paulo. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 340p
- Abessa, D.M.S., Bícego, M.C., Sarkis, J.E., Hortellani, M.A., Sousa, E. C.P. M. 2006. Predictive power of sediment quality guidelines for sediments from the Santos Estuarine System. In: Jorge Herkovitz. (Org.). Salud Ambiental y Humana: una Vision Holistica. Buenos Aires: SETAC Latinoamerica, v.1 , p. 55-57.
- Abessa, D.M.S., Carr, R.S., Sousa, E.C.P.M., Rachid, B.R.F., Zaroni, L.P., Pinto, Y.A., Gasparro, M.R., Bícego, M.C., Hortellani, M.A., Sarkis, J.E.S., Muniz, P. 2008. Integrative ecotoxicological assessment of a complex tropical estuarine system, in: Hoffer, T.N. (Ed) Marine pollution: new research. Nova Science, New York, pp. 125–159.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Tecnicas 2008. NBR 15638 – Qualidade da Água – Determinação da toxicidade aguda de sedimentos marinhos ou estuarinos com anfípodos. Norma Técnica. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Rio de Janeiro, 19 p
- ABNT; Associação Brasileira de Normas Tecnicas. 2011. NBR 15308. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com misídeos (Crustacea). Norma Técnica. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Rio de Janeiro, 19p.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Tecnicas. 2012. NBR 15350. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com ouriço do mar (Echinodermata: Echinoidea). Norma Técnica. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Rio de Janeiro, 21p.
- Adams, S.M., Shepard, K.L., Greeley Jr, M.S., Jimenez, B.D., Ryon, M.G., Shugart, L.R., McCarthy, J.F. 1989. The Use of bioindicators for assessing the effects of pollutant stress on fish. Marine Environmental Research 28, 459-464.
- Adams, W.J., Rowland, C.D. 2002. Aquatic Toxicology Test Methods. In: Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton Jr, G.A, Cairns Jr, J. (Eds.). Handbook of ecotoxicology. CRC Press; 2 edition. Boca Raton, PP. 19-43.
- Aguiar, J.E., Marins, R.V., Almeida, M.D. 2007. Comparação de metodologias de digestão de sedimentos marinhos para caracterização da geoquímica

de metais-traço na plataforma continental nordeste oriental brasileira. *Geochimica Brasiliensis* 21, 304 – 323.

- Almeida, E.A., Bainy, A.C.D., Loureiro, A.P.M., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Onuki, J., Barbosa, L.F., Garcia, C.C.M., Prado, F.M., Ronsein, G.E., Sigolo, C.A., Brochini, C.B., Martins, A.M.G., Medeiros, M.H.G., Mascio, P. 2007. Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 146, 588–600.
- Amaral, A.C.Z., Nonato, E.F. 1996. *Annelida Polychaeta: Características, glossário e chaves para famílias e gêneros da Costa Brasileira*. Campinas, SP. Editora da UNICAMP. 123p.
- Anderson, B.S., Hunt, J.W., Philips, B.M., Fairey, R., Puckett, H.M., Stephenson, M., Taberski, K., Newman, J., Tjeerdema, R.S. 2001. Influence of a sample manipulation on contaminant flux and toxicity at the sediment-water interface. *Marine Environmental Research*. 51: 191-211.
- Andreescu, S., Marty, J.L. 2006. Twenty years research in cholinesterase biosensors: from basic research to practical applications. *Biomolecular Engineering* 23, 1–15.
- Ankley, G.T., DiToro, D.M., Hansen, D.J., Berr, W.J. 1996. Technical basis and proposal for deriving sediment quality criteria for metals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15, 2056–2066.
- APHA; American Public Health Association. 1999. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th edition on CD-ROM. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Araujo, M.L.R. 2004. *Ciclo reprodutivo e distribuição espacial de Anomalocardia brasiliiana (gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia: Veneriidae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará. 92p.
- Azevedo, D.A., Gonçalves, M.L., Silva, D.B. 2007. Organic geochemistry of the Angra dos Reis marine sediments: Aliphatic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Environmental Forensics* 8, 245–256.
- Bainy, A.C.D., Medeiros, M.H.G., Di Mascio, P., Almeida, E.A. 2006. In vivo effects of metals on the acetylcholinesterase activity of the *Perna perna* mussel's digestive gland. *Biotemas* 19, 35 – 39.
- Barrick, R., Becker, S., Brown, L., Bellere, H., Pastorok, R. 1988. Sediment quality values refinement: 1988 update and evaluation of Puget Sound AET, EPA Contract No. 68-01-4341, vol. 1, PTI Environmental Services, Bellevue (WA), USA
- Bartell, S.M. 2006. Biomarkers, Bioindicators, and Ecological Risk Assessment - A Brief Review and Evaluation. *Environmental Bioindicators* 1, 60–73.
- Batley, G.E., Stahl, R.G., Babut, M.P., Bott, T.L., Clark, J.R., Field, L.J., Ho, K.T., Mount, D.R., Swartz, R.C., Tessier, A. 2005. Scientific

- underpinnings of sediment quality guidelines, in: Wenning, R.J., Bartley, G.E., Ingersoll, C.G., Moore, D.W. (Eds.), *Use of Sediment Quality Guidelines and Related Tools for the Assessment of Contaminated Sediments*. Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola, pp. 39–119.
- Bemvenuti, C. E., Angonesi, L. G. and Gandra, M. S. 2005. Effects of dredging operations on soft bottom macrofauna in a harbor in the Patos lagoon estuarine region of southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 65: 573-581.
- Berry, W.J., Cantwell, M., Edwards, P., Serbst, J.R., Hansen, D.J. 1999. Predicting the toxicity of sediments spiked with silver. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 40-48.
- Bertoletti, E., Buratini, S.V., Prósperi, V.A., Araújo, R.P.A., Werner, L.I. 2007. Selection of relevant effect levels for using bioequivalence hypothesis testing. *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology* 2, 139-145.
- Bertoletti, E., Lamparelli, M.C., Bevilacqua, J.E., Prospero, V.A. 2008. Propostas de alterações na Resolução CONAMA 344/2004. In: Boldrini, E.B.; Soares, C.R.; Paula, E.V. (Org.). **Dragagens portuárias no Brasil: Engenharia, tecnologia e meio ambiente**. 1 ed. Antonina/PR: ADEMADAN/UNIBEM/MCT, v. 1, p. 104-113.
- Bezerra, M.O., Pinheiro, L., Morais, J.O. 2007. Shoreline Change of the Mucuripe Harbour Zones (Fortaleza-Ceará, Northeast of Brazil) 1972 – 2003. *Journal of Coastal Research* SI 50, 1163 – 1167.
- Bícego, M.C., Taniguchi, S., Yogui G.T., Montone R.C., Silva, D.A.M., Lourenço, R.A., Martins, C.C., Sasaki, S.T., Pellizari, V.H., Weber, R.R. 2006. Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 52,1784–1832.
- Biggs, T.W., D’Anna, H. 2012. Rapid increase in copper concentrations in a new marina, San Diego Bay. *Marine Pollution Bulletin* 64, 627-635.
- Bocchetti, R., Lamberti, C.V., Pisanelli, B., Razzetti, E.M., Maggi, C., Catalano, B., Sesta, G., Martuccio, G., Gabellini, M., Regoli, F. 2008. Seasonal variations of exposure biomarkers, oxidative stress responses and cell damage in the clams, *Tapes philippinarum*, and mussels, *Mytilus galloprovincialis*, from Adriatic sea. *Marine Environmental Research* 66, 24–26.
- Bradford, M.B. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Anal Biochem*;72:248–54.
- BRASIL. 2004. Resolução nº 344, de 25 de março de 2004. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências. *Diário Oficial, Brasília, Edição nº 87 de 07/05/2004*.

- BRASIL. 2012. Resolução nº 454, de 1 de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. Diário Oficial, Brasília, Edição nº 216 de 08/11/2012.
- Burgess, R.M., Kester, D.R. 2002. Release and phase partitioning of metals from anoxic estuarine sediments during periods of simulated resuspension. *Environmental Science & Technology* 36, 5328-5334.
- Burton Jr., G.A. 1992. **Sediment toxicity assessment**. Lewis Publishers, Inc., Chelsea. 457p.
- Burton Jr., G.A. 2002. Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology* 3, 65–75.
- Burton Jr., G.A., Rosen, G., Chadwick, D. B., Greenberg M.S., Taulbee, W. K., Lotufo, G.R., Reible, D.D. 2005. A sediment ecotoxicity assessment platform for in situ measures of chemistry, bioaccumulation and toxicity. Part 1: System description and proof of concept. *Environmental Pollution* 162, 449-456.
- Burton, G.A., Johnston, E.L., 2010. Assessing contaminated sediments in the context of multiple stressors. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29, 2625-2643.
- Buruaem, L.M., Hortellani, M.A., Sarkis, J.E., Costa-Lotufo, L.V., Abessa, D.M.S. 2012. Contamination by metals of port zones sediments from Large Marine Ecosystems of Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 64, 479-488.
- Camargo, J. A., Alonso, A. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International* 32, 831–849.
- Cantwell, M.G., Burgess, R.M., Kester, D.R. 2002. Release and phase partitioning of metals from anoxic estuarine sediments during periods of simulated resuspension. *Environmental Science & Technology* 36, 5328-5334.
- Cantwell, M.G., Burgess, R.M. 2004. Variability of parameters measured during the resuspension of sediments with a particle entrainment simulator. *Chemosphere* 56, 51–58.
- Carvalho, C.E.V., Salomão, M.S.M.B., Molisani, M.M., Rezende, C.E., Lacerda, L.D. 2002. Contribution of a medium-sized tropical river to the particulate heavy-metal load for the South Atlantic Ocean. *Science of the Total Environment* 284, 85-93.
- Casado-Martínez, M.C., Buceta, J.L., Belzunce M.J., DeIvals, T.A. 2006. Using sediment quality guidelines for dredged material management in commercial ports from Spain. *Environment International* 32, 388 – 396.
- Casarini, L.M., Gomes, U.L., Tomás, A.R.G. 1997. Would be Santos harbour dredged material dumping a reason of teratogeny on *Raja agassizi*?. In: Congresso Latino-Americano sobre Ciências do Mar- COLACMAR,

- 1997, Santos. VII Congresso Latino-Americano sobre Ciências do Mar. São Paulo. Proceedings, 152-152.
- Castro, I.B., Perina, F.C., Fillmann, G. 2012. Organotin contamination in South American coastal areas. *Environmental Monitoring and Assessment* 184, 1781-1799.
- Cavalcante, R.M., Sousa, F.W., Nascimento, R.F., Silveira, E.R., Freire, G.S.S. 2009. The impact of urbanization on tropical mangroves (Fortaleza, Brazil): Evidence from PAH distribution in sediments. *Journal of Environmental Management* 91, 328–335.
- Cavalcante, R.M., Andrade, M.V.F., Marins, R.V., Oliveira, L.D.M. 2010. Development of a headspace-gas chromatography (HS-GC-PID-FID) method for the determination of VOCs in environmental aqueous matrices: Optimization, verification and elimination of matrix effect and VOC distribution on the Fortaleza Coast, Brazil. *Microchemical Journal* 96, 337-343.
- Cavalcante, R.M., Sousa, F.W., Nascimento, R.F., Silveira, E.R., Viana, R.B. 2011 . Influence of urban activities on polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation: Distribution, sources and depositional flux in a developing metropolis, Fortaleza, Brazil. *Science of the Total Environment* 414, 287-292.
- CEDEX. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas. 1994. Recomendaciones para la gestión del material de dragado en los puertos Españoles. Madrid, Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas, Puertos del Estado.
- Cesar, A. 2003. Análisis ecotoxicológico Integrado de la contaminación marina en los sedimentos de la costa de Murcia: el caso de Portmán, Sudeste-España. Tese doutoral, Universidad de Murcia-España, 232p.
- Cesar, A., Abessa, D.M.S., Pereira, C.D.S., Santos, A.R., Fernández, N., Choueri, R.B., DelValls, T.A. 2009. A simple approach to integrate the ecotoxicological and chemical data for the establishment of environmental risk levels. *Brazilian Archives Biology and Technology* 52, 233-240.
- Chapman P.M., Dexter R.N., Long E.R. 1987. Synoptic measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community structure (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series* 37, 75–96.
- Chapman, P.M. 1996. Presentation and interpretation of Sediment Quality Triad data. *Ecotoxicology* 5, 327–339.
- Chapman, P.M., Allard, P.J., Vigers, G.A. 1999a. Development of sediment quality values for Hong Kong special administrative region: a possible model for other jurisdictions. *Marine Pollution Bulletin* 38, 161–169.
- Chapman, P.M., Mann, G.S. 1999b. Sediment quality values (SQVs) and ecological risk assessment (ERA). *Marine Pollution Bulletin* 38, 339–344.

- Chapman, P.M., Wang, F., Adams, W.J., Green A. 1999c. Appropriate applications of sediment quality values for metals and metalloids. *Environmental Science & Technology* 33, 3937–3941.
- Chapman, P.M., Hollert, H. 2006. Should the sediment quality triad become a tetrad, a pentad, or possibly even a hexad? *Journal of Soils & Sediments* 6, 4-8.
- Chapman, P.M. 2007. Determining when contamination is pollution - Weight of evidence determinations for sediments and effluents. *Environment International* 33, 492–501.
- Chapman, P.M., Smith, M. 2012. Assessing, managing and monitoring contaminated aquatic sediments. *Marine Pollution Bulletin* 64, 2000–2004.
- Cheung, C.C.C., Zheng G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J., Lam, P.K. 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology* 52, 189-203.
- Choueri, R.B. 2008. Armonización de protocolos para la evaluación de sedimentos y materiales dragados en zonas costeras del Atlántico. Tese de Doutorado. Universidade de Cádiz, Espanha. 256p.
- Choueri, R.B., Cesar, A., Abessa, D.M.S., Torres, R.J., Morais, R.D., Riba, I., Pereira, C.D.S., Nascimento, M., Mozeto, A.A., DelValls, A.T. 2009a. Development of site-specific sediment quality guidelines for North and South Atlantic littoral zones: Comparison against national and international sediment quality benchmarks. *Journal of Hazard Materials* 170, 320-331.
- Choueri, R.B., Cesar, A., Torres, R.J., Abessa, D.M.S., Morais, R.D., Pereira, C.D.S., Nascimento, M.R.L., Mozeto, A.A., Riba, I., DelValls, T.A. 2009b. Integrated sediment quality assessment in Paranaguá Estuarine System, Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1824-1831.
- Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature* 2002;2:647-56.
- Cruz-Motta, J.J., Collins, J. 2004. Impacts of dredged material disposal on a tropical soft-bottom benthic assemblage. *Marine Pollution Bulletin* 48, 270–280.
- Dauvin, J.C., Ruellet, T. 2007. Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin* 55, 215–224.
- DelValls, T.A., Chapman, P.M. 1998. Site-specific sediment quality values for the Gulf of Cádiz (Spain) and San Francisco Bay (EUA), using the sediment quality triad and multivariate analysis. *Ciencias Marinas* 24, 313-336.
- DelValls, T.A., Forja, J.M., González-Mazo, E., Gómez-Parra, A. Blasco, J. 1998. Determining contamination sources in marine sediments using multivariate analysis. *Trends in Analytical Chemistry* 17, 191-192.

- DeValls, T.A & Conradi, M. 2000. Avances en Ecotoxicología Marina: Comparación entre tests de laboratorio y estudios in situ para la evaluación de la calidad ambiental de los sedimentos. *Ciencias Marinas* 26, 39-64.
- Di Giulio, R.T., Meyer, J.N. 2008. Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress. In: Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. (Eds). **The toxicology of fishes**. CRC Press, Taylor and Francis Group, New York, pp 273-324.
- DiToro, D.M., Mahony, J.J., Hansen, D.J., Scott, K.J., Hicks, M.B., Mayr, S.M., Redmond, M.S. 1990. Toxicity of cadmium in sediments: The role of acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry* 9, 1487-1502.
- DiToro, D.M., Zarba, C.S., Hansen, D.J., Berry, W.J., Swartz, R.C., Cowan, C.E., Pavlou, S.P., Allen, H.E., Thomas, N.A., Paquin, P.R. 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals by using equilibrium partitioning. *Environmental Toxicology and Chemistry* 10, 1541-1583.
- DiToro, D.M., McGrath, J.A., Hansen, D.J. 2000a. Technical basis for narcotic chemicals and polycyclic aromatic hydrocarbon criteria. I. Water and tissue. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19, 1971-1982.
- DiToro, D.M., McGrath, J.A. 2000b. Technical basis for narcotic chemicals and polycyclic aromatic hydrocarbon criteria. II. Mixtures and sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19, 1983-1991.
- DOCAS DO CEARÁ. Autoridade portuária. Banco de dados. Disponível em <<http://www.docasdoceara.com.br>> Acesso em 28 de fevereiro de 2008.
- EA. Environment Australian. 2002. National Ocean Disposal Guidelines for Dredged Material, Commonwealth of Australia, Canberra, 182p.
- EC. Environmental Canada. 2008. Environmental Canada and Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec. Criteria for the Assessment of Sediment Quality in Quebec and Application Frameworks: Prevention, Dredging and Remediation, 39p.
- Eggleton, J., Thomas, K. V. 2004. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International* 30, 973-980.
- Ellman, G. L.; Courtney, D.; Andres Junior, V.; Featherstone, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7, 88-96.
- Everaarts J.M. 1995. DNA Integrity as a Biomarker of Marine Pollution: Strand Breaks in Seastar (*Asterias rubens*) and Dab (*Limanda limanda*). *Marine Pollution Bulletin* 31, 431-438.
- Fairey, R., Long, E.R., Roberts, C.A., Anderson, B.S., Phillips, B.M., Hunt, J.W., Puckett, H.R. Wilson, C.J. 2001. An evaluation of methods for calculating mean sediment quality guideline quotients as indicators of contamination and acute toxicity to amphipods by chemical mixtures. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 2276-2286.

- Freire, G.S.S., Lima, S., Maia, L.P., Lacerda, L.D. 2004. Geochemistry of continental shelf sediments of the Ceará coast, NE Brazil. In: Lacerda, L.D., Santelli, R.E., Duursma, E.K., Abrão, J.J. (Eds.). Facets of Environmental Geochemistry in Tropical and Subtropical Environments. Springer Verlag, Berlin pp. 365-378.
- Fresi, E., Gambi, M.C., Focardis, S., Bargagli, R., Baldi, F., Falliacci, I. 1983. Benthic community and sediment types: a structural analysis. *Stazione Zoologica di Napoli, Marine Ecology* 4, 101-121.
- Fulton, M.H., Key, P.B., 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 37–45.
- Gadhgbui, B.K.M., Addy, M., Goksoy, A. 1996. Species Characteristics of Hepatic Biotransformation Enzymes in Two Tropical Freshwater Teleosts, Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Mudfish (*Clarias anguillutis*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C* 114, 201-211.
- Gagné F, Blaise C. 1993. Hepatic metallothionein level and mixed function oxidase activity in fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after acute exposure to pulp and paper mill effluents. *Water Research* 27, 1669-1682.
- Girotti, A.W., 1998. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research* 39, 1529–1542.
- Grasshoff, K.; Ehrhardt, M.; Kremling, K., 1983. Methods of seawater analysis. 2nd ed. Weinhein, Verlag Chemie, 419p.
- Gross, M.G., 1971. Carbon determination. In: Carver, R.E. (Ed.), *Procedures in Sedimentary Petrology*. Wiley-Interscience, New York, pp. 573–596.
- Guerra-García, J.M., García-Gómez, J.C. 2005. Assessing pollution levels in sediments of a harbor with two opposing entrances. *Environmental implications. Journal of Environmental Management* 77, 1–11.
- Guevara-Riba, A., Sahuquillo, A., Rubio, R., Rauret, G. 2004. Assessment of metal mobility in dredged harbour sediments from Barcelona, Spain. *Science of the Total Environment* 321,241–255.
- Hartwell, S.I., Hameedi, M.J. 2006. Habitat conditions and correlations of sediment quality triad indicators in Delaware Bay. *Environmental Monitoring and Assessment* 121, 181–212.
- Hill, R.A., Chapman, P.M., Mann, G.S., Lawrence, G.S. 2000. Level of Detail in Ecological Risk Assessments. *Marine Pollution Bulletin* 40, 471-477.
- Hortellani, M.A., Sarkis, J.E.S., Abessa, D.M.S., Sousa, E.C.P.M. 2008. Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do estuário Santos – São Vicente. *Quimica Nova* 31, 10-19.

- ISO – International Organization for Standardisation. 1999. Water quality - determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda. Crustacea). First edition. ISO/DIS 14669. Gêneve. Switzerland,16p.
- Janero, D., 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology & Medicine* 9, 515–540.
- Jesus, H.C., Costa, E.A., Mendonça, A.S.F., Zandonade, E. 2004. Distribuição de metais pesados em sedimentos do sistema estuarino da ilha de Vitória-ES. *Química Nova* 27, 378-386.
- Jimenez, J., Maia, L.P. 1999. Aeolian dune migration, NE Brazil. *Sedimentology* 46, 689-701.
- Kennedy A.J., Steevens, J.A., Lotufo, G.R., Farrar, J.D., Reiss, M.R., Kropp, R.K., Doi, J., Bridges, T.S. 2009. A comparison of acute and chronic toxicity methods for marine sediments. *Marine Environmental Research* 68, 118–127.
- Klapow, L.A., Lewis, R.H. 1979. Analysis of toxicity data for California marine water quality standards. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 51, 2051-2070.
- Lacerda, L.D., Marins, R. V. 2005. Geoquímica de sedimentos e o monitoramento de metais na plataforma continental nordeste oriental do brasil. *Geochimica brasiliensis* 20, 123-135.
- Langston, W.J., Pope, N.D. 1995. Determinants of TBT Adsorption and Desorption in Estuarine Sediments. *Marine Pollution Bulletin* 31, 1-3.
- Legorburu, I., Galparsoro, I., Larreta, J., Rodríguez, J.G., Borja, Á., Spatial distribution of metal accumulation areas on the continental shelf of the Basque Country (Bay of Biscay): A GIS-based approach. 2013. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. doi: 10.1016/j.ecss.2013.05.024.
- Liu, G.Q., Zhang, G., Li, X.D., Li, J., Peng, X.Z., Qi, S.H., 2005. Sedimentary record of polycyclic aromatic hydrocarbons in a sediment core from the Pearl River Estuary, South China. *Marine Pollution Bulletin* 51, 912–921.
- Long ER, Chapman, P.M.1985. A sediment quality triad: measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition in Puget Sound. *Marine Pollution Bulletin* 16, 405–415.
- Long, E. R., Morgan,L.G. 1990. The potential for biological effects of sediment-sorbed contaminants tested in the National Status and Trends Program. NOAA Technincal Reporto. NOS OMA 52. US National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle, Washington, 175 pp.
- Long, E.R., MacDonald, D.D., Smith, S.L., Calder, F.D. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management* 19, 81-97.

- Long, E.R., Field, L.J., MacDonald, D.D. 1998. Predicting toxicity in marine sediments with numerical sediment quality guidelines, *Environmental Toxicology and Chemistry* 17, 714–727.
- Long, E.R., Hong, C.B., Severn, C.G., 2001. Relationships between acute sediment toxicity in laboratory tests and abundance and diversity of benthic infauna in marine sediments: a review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 46–60.
- Long, E.R., Ingersoll, C.G., Mac Donald, D.D. 2006. Calculation and uses of mean sediment quality guideline quotient, a critical review, *Environmental Science & Technology* 40, 1726–1736.
- Losso, C., Novelli, A.A., Picone, M., Marchetto, D., Pantani, C., Ghetti, P.F., Ghirardini, A.V., 2007. Potential role of sulfide and ammonia as confounding factors in elutriate toxicity bioassays with early life stages of sea urchins and bivalves. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66, 252-257
- Luczak, C., Janquin, M., Kupka, A. 1997. A. Simple standard procedure for the routine determination of organic matter in marine sediment. *Hydrobiologia* 345, 87–94.
- MacDonald, D.D., Carr, R.S., Calder, F.D., Long, E.R., Ingersoll, C.G. 1996. Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology* 5, 253–278.
- MacDonald, D.D., Ingersoll, C.G., Berger, T.A. 2000. Development and Evaluation of Consensus-Based Sediment Quality Guidelines for Freshwater Ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39, 20–31.
- Machado, W., Rodrigues, A.P.C., Bidone, E.D., Sella, S.M., Santelli, R.E. 2011. Evaluation of Cu potential bioavailability changes upon coastal sediment resuspension: an example on how to improve the assessment of sediment dredging environmental risks. *Environmental Science and Pollution Research* 18, 1033 – 1036.
- Maia, L.P., Raventos, J.S., Oliveira, P.M.P., Meireles, A.J.A., 1996. Alterações climáticas na região de Fortaleza causadas por fatores naturais e antrópicos. *Revista de Geologia* 9, 111-121.
- Maia, L.P., Jimenez, J.A., Serra, J., Morais, J.O. 1998. The Coastline of Fortaleza City. A product of environmental impacts caused by the Mucuripe Harbor. *Arq. Ciênc. Mar* 31, 93-100.
- MAIA, S.R.R. 2004. Distribuição e participação geoquímica de metais traço na costa norte de Fortaleza-CE. Dissertação de Mestrado. Fortaleza. Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará.
- Marins, R.V., Filho, F.J.P., Maia, S.R.R., Lacerda, L.D., Marques, W.S. 2004. Distribuição de mercúrio total como indicador de poluição urbana e industrial na costa brasileira. *Química Nova* 27, 763-770.

- Marins, R.V., Paula-Filho, F.J., Rocha, C.A.S. 2007. Geoquímica de fósforo como indicadora da qualidade ambiental e dos processos estuarinos do rio Jaguaribe - costa nordeste oriental brasileira. *Quimica Nova* 30, 1208-1214.
- Marques, W.S. 2008. Geoquímica de carbonatos da plataforma continental nordeste do Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências. Recife, PE. 118p.
- Marques, W.S., Sial, A.N., Menor, E.A., Ferreira, V.P., Freire, G.S.S., Lima, E.A.M., Manso, V.A.V. 2008. Principal component analysis (PCA) and mineral associations of litoraneus facies of continental shelf carbonates from northeastern Brazil. *Continental Shelf Research* 28, 2709-2717.
- Martín-Díaz, M.L., Blasco, J. Sales, D., DelValls, T.A. 2004. Biomarkers as tools to assess sediment quality. Laboratory and field surveys. *Trends in Analytical Chemistry* 23, 10–11.
- Martín-Díaz, M.L., Gagné, F., Blaise, C. The use of biochemical responses to assess ecotoxicological effects of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) after injection in the mussel *Elliptio complanata*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28, 237–242.
- Martins, C.C., Bicego, M.C., Mahiques, M.M., Figueira, R.C.L., Tessler, M.G., Montone, R.C. 2010. Depositional history of sedimentary linear alkylbenzenes (LABs) in a large South American industrial coastal area (Santos Estuary, Southeastern Brazil). *Environmental Pollution* 158, 3355-3364.
- Martins, C.C., Bicego, M.C., Figueira, R.C.L., Angelli, J.L.F., Combi, T., Gallice, W.C., Mansur, A.V., Nardes, E. Rocha, M.L., Wisnieski, E., Ceschim, L.M.M., Ribeiro, A.P. 2012. Multi-molecular markers and metals as tracers of organic matter inputs and contamination status from an Environmental Protection Area in the SW Atlantic (Laranjeiras Bay, Brazil). *Science of the Total Environment*, 417-418, 158-168.
- McFarland, V.A., Inouye, S.L., Lutz, C.H., Jarvis, A.S., Clarke, J.U., McCant, D.D. 1999. Biomarkers of oxidative stress and genotoxicity in livers of field collected brown bullhead, *Ameiurus nebulosus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 37, 236-241.
- McGee, B.L., Pinkney, A.E., Velinsky, D.J., Ashley, J.T.F., Fisher DJ, Ferrington LC, Norberg-King, T.J. 2009. Using the Sediment Quality Triad to characterize baseline conditions in the Anacostia River, Washington, DC, USA. *Environmental Monitoring and Assessment* 156, 51–67.
- Medeiros, P.M., Bicego, M.C. 2004. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos, SP–Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 49, 761–769.
- Medeiros, P.M., Bicego, M.C., Castelao, R.M., Rosso, C.D., Fillmann, G., Zamboni, A.J. 2005. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Environment International* 31, 77– 87.

- Medeiros, P.M., Bicego, M.C. 2007. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. II. São Sebastião, SP–Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 49, 892–899.
- Melo, S.L.R., Abessa, D.M.S. 2002. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos como organismo-teste. In: NASCIMENTO, I.; SOUSA, E. C. P. M.; NIPPER, M. G. (Eds.). **Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Salvador: Editora Artes Gráficas, Cap.16, p.163-1778.
- Melo, S.L.R., Nipper, M. 2007. Sediment toxicity tests using the burrowing amphipod *Tiburonella viscana* (Amphipoda: Platyischnopidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66, 412–420.
- Montserrat, J.M., Geracitano, L.A., Assis, H.C.S., Colares, E.P., Bianchini, A. 2006. Biomarcadores Bioquímicos. In: Lana, P.C., Bianchini, A., Ribeiro, C.A.O., Niencheski, L.F.H., Fillmann, G., Santos, C.S.G.(Eds.). **Avaliação Ambiental de Estuários Brasileiros-diretrizes metodológicas**. Museu Nacional/UFRJ, Rio de Janeiro, p.124-131.
- Montserrat, J.M., Martínez, P.E., Geracitano L.A., Amado, L.L., Martins, C.M.G Pinho, G.L.L., Chaves, I.S., Ferreira-Cravo, M., Ventura-Lima, J., Bianchini, A. 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 146, 221–234.
- Morales-Caselles, C. M., Martín-Díaz, L., Riba, I., Sarasquete, C., DelValls T.A. 2008. Sublethal responses in caged organisms exposed to sediments affected by oil spills. *Chemosphere* 72, 819-825.
- Muniz, P., Danulat, E., Yannicelli, B., García-Alonso, J., Medina, G., Bicego, M.C. 2004. Assessment of contamination by heavy metals and petroleum hydrocarbons in sediments of Montevideo Harbour (Uruguay). *Environment International* 29, 1019–1028.
- Mzoughi, N., Chouba, L. 2011. Distribution and partitioning of aliphatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons between water, suspended particulate matter, and sediment in harbours of the West coastal of the Gulf of Tunis (Tunisia). *Journal of environmental Monitoring* 13, 689-698.
- Najimi, S., Bouhaimi, A., Daubéze, M., Zekhnini, A., Pellerin, J., Narbone, J.F., Moukrim, A. 1997. Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of pollution in Agadir marine bay (South of Morocco). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 58, 901–908.
- Narchi, W. 1972. Comparative study of the functional morphology of *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) and *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia, Veneridae). *Bulletin of Marine Science* 22, 643-670.

- Nascimento, F.S., Freire, G.S.S., Miola, B. 2010. Geochemistry of marine sediments of the Brazilian northeastern continental shelf. *Brazilian Journal of Oceanography* 58, 1-11.
- Nogueira, M.L., Augusto, V. A., Castelo-Branco, R.M. G., Castro, D. L. 2005. Caracterização Geoambiental e Hidrogeológica da Zona Portuária do Pecém/CE. *Revista de Geologia*. 18, 203-213.
- Norberg-King, T.J. – A linear interpolation method for sublethal toxicity: the inhibition concentration (ICp) Approach version 2.0. Duluth:USEPA, MN 55804.
- NRC. National Research Council. 1997. Contaminated Sediments in Ports and Waterways: Cleanup Strategies and Technologies. Committee on Contaminated Marine Sediments. Marine Board, Commission on Engineering and Technical Systems, National Research Council. 320p.
- NRC. National Research Council. 1987. Biological markers in environmental health research. Committee on Biological Markers of the National Research Council. *Environmental Health Perspectives* 74.
- Olive, P.L. 1988. DNA precipitation assay: a rapid and simple method for detecting DNA damage in mammalian cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 11, 487-495.
- OSPAR. The Convention for the Protection of the marine Environment of the North-East Atlantic. 2008. Overview of Contracting Parties' National Action Levels for Dredged Material. Biodiversity series, publication number 2008/363, 23p.
- Paula, D.P., Dias, J.M.A., Ferreira, Ó., Morais, J.O. 2013. High-rise development of the sea-front at Fortaleza (Brazil): Perspectives on its valuation and consequences. *Ocean & Coastal Management* 77, 14-23.
- Payne, J.F., Mathieu, A., Melvin, W., Fancey, L.L. 1996. Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin* 32, 225 – 231.
- Peakall, D.B. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. *Ecotoxicology* 3, 157-160.
- Pereira, C.D., Abessa D.M.S., Bainy, A.C., Zaroni, L.P., Gasparro, M.R., Taniguchi, S., Furley, T.H., Sousa, E.C.P.M. 2007. Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in mussels from São Sebastião, São Paulo, Brazil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26, 462–469.
- Pereira, C.D., Martin-Díaz, M.L., Zanette, J., Cesar, A., Choueri, R.B., Abessa D.M., Catharino, M.G., Vasconcellos, M.B., Bainy, A.C., Sousa, E.C.P.M., Del Valls, T.A. 2011. Integrated biomarker responses as environmental status descriptors of a coastal zone (São Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74, 1257–1264.

- Pereira, C.D.S., Martín-Díaz, M.L., Catharino, M.G.M, Cesar, A., Choueri, R.B., Taniguchi, S., Abessa, D.M.S., Bicego, M.C., Vasconcellos, M.B.A., Bairy, A.C.D., Sousa, E.C.P.M., DelValls, T.A. 2012. Chronic contamination assessment integrating biomarkers' responses in transplanted mussels—A seasonal monitoring. *Environmental Toxicology* 27, 257–267.
- Pesch, C.E., Hansen, D.J., Boothman, W.S., Berry, W.J., Mahony, J.D. 1995. The role of acid volatile sulfide and interstitial water metal concentrations in determining bioavailability of cadmium and nickel from contaminated sediments to the marine polychaete *Neanthes arenaceodentata*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 129-141.
- Petrovic, M., Gonzalez, S., Barcelo, D. 2003. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends iAnal. Chem.*, 22, 10, 685- 696.
- Pietzsch, R., Patchineelam, S.R., Torres, J.P.M. 2010. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments from a subtropical estuary in Brazil. *Marine Chemistry* 118, 56–66.
- Prósperi, V.A. 2002. Comparação de métodos ecotoxicológicos na avaliação de sedimentos marinhos e estuarinos. PhD Thesis, Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos.118p.
- Ravanat, J.L. 2005. Measuring Oxidized DNA Lesions as Biomarkers of Oxidative Stress: An Analytical Challenge. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 30, 100-113.
- Regoli, F., Principato, G. 1995. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology* 31, 143-164.
- Regoli, F., Giuliani, M.E. 2013. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Marine Environmental Research*. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.07.006>.
- Riba, I., García-Luque, E., Blasco, J., DelValls, T.A. 2003. Bioavailability of heavy metals bound to estuarine sediments as a function of pH and salinity values. *Chemical Speciation & Bioavailability* 15, 101-114.
- Riba, I., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., DelValls, T.A. 2004a. Sediment quality in littoral regions of the Gulf of Cádiz: a triad approach to address the influence of mining activities. *Environmental Pollution* 132, 341-353.
- Riba, I., Casado-Martínez, C., Forja, J.M., DelValls, A. 2004b. Sediment quality in the Atlantic coast of Spain. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 271–282.
- Rios, E. 1984. *Sea Shells of Brazil*. 2nd Edition. Editora da FURG. Rio Grande, RS. 368p.

- Rocha-Barreira, C.A., Monteiro, D.O., Franklin-Júnior, W. 2001. Macrofauna bentônica da faixa entremarés da Praia do Futuro, Fortaleza, Ceará, Brasil. *Arquivos de Ciências do Mar* 34, 23 – 38.
- Schlenk, D., Celander, M., Gallagher, E.P., George, S., James, M., Kullman, S.W., VandenHurk, P., Willett, K. 2008. Biotransformation in Fishes. In: Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. (Eds). **The toxicology of fishes**. CRC Press, Taylor and Francis Group, New York, pp 153-234.
- Shi, H., Hudson, L.G., Liu, K.J., 2004. Oxidative stress and apoptosis in metal ion-induced carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine* 37, 582 - 593.
- Shine, J.P., Trapp, C.J., Coull, B.B. 2003. Use of receiver operating characteristic curves to evaluate sediment quality guidelines for metals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22, 1642–1648.
- Silva, C., Mattioli, M., Fabbri, E., Yáñez, E., DelValls, T.A., Martín-Díaz, L.M. 2012. Benthic community structure and biomarker responses of the clam *Scrobicularia plana* in a shallow tidal creek affected by fish farm effluents (Rio San Pedro, SW Spain). *Environment International* 47, 86–98.
- Silva, T.R., Lopes, S.R.P., Spörl, G., Knoppers, B.A., Azevedo, D.A. 2013. Evaluation of anthropogenic inputs of hydrocarbons in sediment cores from a tropical Brazilian estuarine system. *Microchemical Journal* 109, 178-188.
- Siqueira, G.W., Braga, E.S., Mahiques, M.M., Aprile, F.M. 2006. Determinação da matéria orgânica e razões C/N e C/S em sedimentos de fundo do estuário de Santos - SP/Brasil. *Arquivo de Ciências do Mar* 39, 18 – 27.
- Sousa, E.C.P.M., Abessa, D.M.S., Gasparro, M.R., Zaroni, L.P., Rachid, B.R.F. 2007. Ecotoxicological Assessment of Sediments from the Port of Santos and the Disposal Sites of Dredged Material. *Brazilian Journal of Oceanography* 55, 75-81.
- Solé, M., Porte, C., Albaigés J. 1994. Mixed-function oxygenase system components and antioxidant enzymes in different marine bivalves: its relation with contaminant body burdens. *Aquatic Toxicology* 30, 271-283.
- StatSoft. 2007. STATISTICA versão 8.0. programa de computador. StatSoft Inc. Tulsa, OK.
- Stegeman, J.J., Livingstone, D.R., 1998. Forms and functions of cytochrome P450. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C* 121, 1–3.
- Tabachnick, B.G., Fidell, L.S. 1996. *Using Multivariate Statistics*, Harper Collins, New York.
- Torres, R.J., Abessa, D.M.S., Santos, F.C., Maranhão, L.A., Davanzo, M.B., Nascimento M.R.L., Mozeto, A.A. 2009. Effects of dredging operations on sediment quality: contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil. *Journal of Soils & Sediments* 9, 420–432.

- UNEP. United Nations Environment Programme 1992. *Determinations Of Petroleum Hydrocarbons In Sediments..* Reference methods for marine pollution studies, 97p.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 1985. Guidelines for Deriving Numerical Water Quality Criteria for the Protection of Aquatic Organisms and Their Uses. Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, Cincinnati. EPA/600/4-85/014.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 1991. Evaluation of Dredged Material Proposed for Ocean Disposal. EPA 503/8-91/001.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 1992. United States Environmental Protection Agency. Framework for ecological risk assessment. Washington, DC EPA/ 630/R-92/001.41p.
- USEPA; United States Environmental Protection Agency. 1993. guidance Manual: Bedded sediment bioaccumulation tests. EPA/600/R-93/193. Washington, DC.
- USEPA; United States Environmental Protection Agency. 1996. Method 3051A. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Environmental Protection Agency. Washington, D.C., 30p.
- USEPA; United States Environmental Protection Agency. 2000a. Bioaccumulation testing and interpretation for the purpose of sediment quality assessment: status and needs. EPA/823/R-00/001. Washington, DC.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 2000b. Equilibrium partitioning sediments guidelines (ESGs) for the protection of benthic organisms: Metal mixtures (cadmium, copper, lead, nickel, silver and zinc). Washington, DC. EPA/822/R-00/005.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 2003. Procedures for the Derivation of Equilibrium Partitioning Sediment Benchmarks (ESBs) for the Protection of benthic organisms: PAH Mixtures. Washington, DC. EPA/600/R-02/013.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 2004. Evaluating environmental effects of dredged material management alternatives—a technical framework. EPA/842/B-92/008.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 2005. Procedures for the derivation of Equilibrium Partitioning Sediment Benchmarks (ESBs) for the protection of benthic organisms: metal mixtures (cadmium, copper, lead, nickel, silver, and zinc). Washington, DC. EPA/600/R-02/011.
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64, 178–89.

- Van den Hurk, P., Eertman, R.H.M., Stronkhorst, J. 1997. Toxicity of Harbour Canal Sediments Before Dredging and After Off-Shore Disposal. *Marine Pollution Bulletin* 34, 244-249.
- Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* , 57-149.
- Van der Oost, R., Van Schooten, F.J., Ariese, F., Heida, H., Satumalay, K., Vermaulen, N.P.E. 1994. Bioaccumulation, biotransformation and DNA binding of PAHs in feral eel (*Anguilla anguilla*) exposed to polluted sediments: a field survey *Environmental Toxicology and Chemistry* 13, 859-870.
- Van Gestel, C.A.M. Van Brummelen, T.C. 1996. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology* 5, 217-225.
- VASCONCELOS, F.P. & MELO, M.T.D. 1996. Evolution and actual situation of pollution at the Mucuripe harbor embayment (Fortaleza-Ceará State, Brazil). *Arquivo de Ciências do Mar* 30, 63-71.
- Vieira, L.R., Gravato, C., Soares, A.M.V.M., Morgado, F., Guilhermino, L. 2009. Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: Linking biomarkers to behaviour. *Chemosphere* 76, 1416-1427.
- Wagener, A. Hamacher, C., Farias, C., Godoy, J.M., Scofield, A. 2010. Evaluation of tools to identify hydrocarbon sources in recent and historical sediments of a tropical bay. *Marine Chemistry* 121, 67-79.
- Wagener, A.L.R., Carreira, R.S., Hamacher, C., Scofield, A.L., Farias, C.O., Cordeiro, L.G.M.S., Luz, L.G., Baêta, A.P., Kalas, F.A. 2011. Hydrocarbon composition and distribution in a coastal region under influence of oil production in northeast Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 62, 1877-1882.
- Wagener, A.L.R., Meniconi, M.F.G., Hamacher, C, Farias, C.O., Silva, G.C., Gabardo, I.T., Scofield, A.L. 2012. Hydrocarbons in sediments of a chronically contaminated bay: The challenge of source assignment. *Marine Pollution Bulletin* 64, 284-294.
- Walker, C.H., Sibly, R.M., Hpkin, S.P., Peakall, D.B. 2012. *Principles of Ecotoxicology*. 4th Ed. CRC Press. Boca Raton, FL. 360p.
- Wauhob, T.J., Nipper, M., Billiot, E. 2007. Seasonal variation in the toxicity of sediment-associated contaminants in Corpus Christi Bay, TX. *Marine Pollution Bulletin* 54, 1116-1126.
- Wells, P.G. 2013. Canadian aquatic science and environmental legislation under threat. *Marine Pollution Bulletin* 69, 1-2.
- Wenning, R.J., Batley, G.E., Ingersoll, C.G., Moore, D.W. (Eds.), 2005. *Use of Sediment Quality Guidelines and Related Tools for the Assessment of Contaminated Sediments*. SETAC Press, Pensacola, FL.

- Wentworth, C. K. 1992. A Scale of Grade and Class Terms for Clastic Sediments. *Journal Sedimentary Petrology* 30, 377-390.
- West, I.N.C., Gulley, D. 1996. TOXSTAT®. **Computer Program, Version 3.5.** University of Wyoming.
- WHO. World Health Organization. 2001. Biomarkers In Risk Assessment: Validity And Validation. International Programme on Chemical Safety (IPCS), Environmental Health Criteria 222. Geneva, Switzerland. Disponivel em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc222.htm>.
- Wills, E.D. 1987. Evaluation of lipid peroxidation in lipids and biological membranes. In: Snell, K., Mullock, B. (Eds). **Biochemical toxicology a practical approach.** IRL Press, Oxford, 127-52.
- Winger, P.V., Lasier, P.J. 1991. A vacuum-operated pore-water extractor for estuarine and freshwater sediments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21, 321-324.
- Wong, Y.S., Tamj, N.F.Y., Lau, P.S., Xue, X.Z. 1995. The toxicity of Marine Sediments in Victoria Harbour, Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin* 31, 464-47.
- Ytreberg, E., Karlsson, J., & Eklund, B. 2010. Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater. *The Science of the Total Environment* 408, 2459-2466.

Anexo 1 – Lista de espécies identificadas nas estações de coleta de sedimentos do Porto do Mucuripe

Táxon	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
<i>Corbula caribea</i>	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
<i>Abra aequalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
<i>Temnoconcha brasiliiana</i>	18	0	12	0	48	12	12	0	0	0
<i>Lucina pectinata</i>	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cerithiopsis latum</i>	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
<i>Mellita quinquesperforata</i>	0	0	0	0	0	0	0	48	18	6
<i>Melinna cristata</i>	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
<i>Aphelochaeta</i> sp.	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
<i>Chaetozone</i> sp.	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0
<i>Timarete</i> sp.	0	0	0	0	6	0	48	0	0	0
<i>Cossura candida</i>	0	6	6	0	0	0	6	0	0	0
<i>Grubeulepis fimbriata</i>	0	0	0	0	6	6	0	0	0	0
<i>Pareulepis multibranchiata</i>	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0
EUNICIDAE	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
<i>Glycera lapidum</i>	18	0	0	6	12	0	48	0	0	0
<i>Glycera</i> sp1.	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glyceridae</i> sp1.	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glycinde</i> sp.	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0
<i>Magelona papillicornis</i>	0	0	0	6	6	0	24	0	0	0
<i>Magelona posterolongata</i>	67	0	24	0	12	55	30	0	0	0
<i>Magelona</i> sp.	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0
<i>Ceratocephale</i> sp.	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Laeonereis acuta</i>	24	0	0	12	6	0	36	0	0	0
<i>Scoloplos</i> sp1.	18	0	0	0	6	0	6	0	0	0
PARAONIDAE	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0
<i>Eulalia</i> sp	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SABELLIDAE	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
<i>Sthenolepis grubei</i>	0	0	6	12	0	0	0	6	0	0
<i>Polydora cf. ligni</i>	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
<i>Polydora</i> sp.	0	0	0	12	12	0	0	0	0	0
<i>Prionospio pinnata</i>	48	48	6	24	0	0	12	6	0	0
<i>Prionospio cf. pygmaea</i>	0	0	0	0	6	0	42	6	0	0
<i>Prionospio</i> sp.	0	0	12	0	0	6	0	0	0	0
<i>Sternaspis capillata</i>	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nicolea</i> sp.	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0
<i>Terebellidae</i> sp1.	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NEMATODA	6	12	0	0	12	0	0	18	0	0
CHAETOGNATA	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
PENAEIDAE	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0
DECAPODA Larvae	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
CUMACEA	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
<i>Psammokalliapseudes</i> sp.	0	0	0	0	12	0	0	12	0	0
TANAIDACEA	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ampelisca</i> sp.	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
GAMMARIDEA	0	6	0	0	0	0	6	18	0	0
<i>Jassa</i> sp.	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0
<i>Erichthonius</i> sp.	0	0	0	0	85	0	0	0	0	0

Anexo 2 – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos detectados nas estações de coleta no Porto do Mucuripe.

Composto	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M1B	M2B	M3B	M4B	M5B	M6B	M7B	M8B	M9B	MD1	MD2	MD3	MD1'	MD2'	MD3'	Icapui
naftaleno	1.78	4.41	1.75	4.18	<1.60	2.2	<1.60	<1.60	<1.60	<1.60	8.67	24.67	2.21	1.94	5.13	<1,60	<1,60	<1,60	<1,60	4.7	<1,60	<1,60	9.59	<1,60	<1,60	<1,60
metilnaftaleno	1.68	6.75	<1.30	3.93	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	10.11	31.35	2.84	1.99	9.21	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	12.52	<1,30	<1,30	15.1	<1,30	<1,30	<1,30
bifenil	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	1.39	3.26	<1,30	<1,30	2.12	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	1.4	<1,30	<1,30	1.47	<1,30	<1,30	<1,30
etilnaftaleno	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	5.58	<2,60	<2,60	<2,60	<2,60	<2,60	<2,60	<2,60	4.16	<2,60	<2,60	4.44	<2,60	<2,60	<2,60
dimetilnaftaleno	2.72	10.57	<2.60	6.87	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	13.26	51.2	4.95	3.43	16.09	<2,60	<2,60	<2,60	<2,60	44.97	<2,60	<2,60	37.89	<2,60	<2,60	<2,60
acenaftileno	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	<3.70	5.78	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70	<3,70
acenafteno	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	1.32	16.27	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	1.42	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30
trimetilnaftaleno	1.58	3.83	<1.30	3.2	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	13.57	49.17	2.2	2.47	2.51	1.39	<1,30	<1,30	<1,30	78.7	<1,30	<1,30	59.32	<1,30	<1,30	<1,30
fluoreno	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	2.19	26.6	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	6.51	<1,30	<1,30	4.03	<1,30	<1,30	<1,30
dibenzotiofeno	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	5.56	34.52	<1,30	<1,30	3.44	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30	4.13	<1,30	<1,30	21.39	<1,30	<1,30	<1,30
fenantreno	<2.60	3.12	2.9	3.41	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	<2.60	16.04	461.11	2.98	2.73	5.75	<2,60	<2,60	2.84	<2,60	19.5	<2,60	<2,60	15.72	<2,60	<2,60	<2,60
antraceno	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	3.89	90.07	<1,10	<1,10	1.78	<1,10	<1,10	<1,10	<1,10	3.99	<1,10	<1,10	3.24	<1,10	<1,10	<1,10
metilfenantreno	3.56	6.99	3.08	4.42	<2.20	2.68	3.1	<2.20	<2.20	<2.20	31.3	172.34	4.34	5.08	11.61	2.93	<2,20	2.52	<2,20	65.8	<2,20	<2,20	76.11	<2,20	<2,20	<2,20
fluoranteno	6.64	5.9	7.97	8	3.51	4.15	2.8	<1.30	<1.30	<1.30	36.74	603.39	3.81	5.1	8.86	3.24	2.72	5.39	<1,30	34.92	<1,30	<1,30	24.66	<1,30	<1,30	<1,30
pireno	6.11	6.62	5.98	6.36	2.85	3.3	2.44	<1.30	<1.30	<1.30	34.76	383.19	3.25	5.43	8.82	2.84	2.44	3.99	<1,30	42.19	<1,30	<1,30	35.43	<1,30	<1,30	<1,30
metilfluoranteno	<LDM	3.75	2.49	2.9	1.32	1.72	1.69	<1.30	<1.30	<1.30	18.99	122.63	1.86	2.87	4.75	1.96	1.5	<1,30	<1,30	55.59	<1,30	<1,30	28.38	<1,30	<1,30	<1,30
reteno	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	8.38	17.52	<1,30	4.58	3.14	<1,30	2.66	<1,30	<1,30	20.93	<1,30	<1,30	22.25	<1,30	<1,30	<1,30
metilpireno	1.88	4.86	1.55	2.25	<1.30	<1.30	2.23	<1.30	<1.30	<1.30	25.27	105.05	1.78	3.43	5.51	1.76	<1,30	1.31	<1,30	99.44	<1,30	<1,30	66.43	<1,30	<1,30	<1,30
benzo(c)fenantreno	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	2.95	23.53	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	5.77	<1,20	<1,20	2.1	<1,20	<1,20	<1,20
benzo(a)antraceno	3.57	4.16	3.07	3.2	2.14	1.73	1.27	<1.20	<1.20	<1.20	19.97	209.05	1.72	2.49	4.38	1.68	1.42	1.92	<1,20	26.82	<1,20	<1,20	11.63	<1,20	<1,20	<1,20
criseno	4.79	5.03	4.34	4.84	2.65	2.95	1.98	<1.20	<1.20	<1.20	34.73	288.34	3.36	4.55	6.2	2.85	2.26	3.13	<1,20	82.6	<1,20	<1,20	41.14	<1,20	<1,20	<1,20
metilcriseno	4.57	8.82	2.79	4.26	1.48	2.76	2.01	<1.20	<1.20	<1.20	45.57	176.21	4.6	5.58	10.05	3.2	2.08	2.61	<1,20	163.07	<1,20	<1,20	87.1	<1,20	<1,20	<1,20
benzo(b)fluoranteno	3.44	3.12	2.59	3.02	1.99	2.09	1.43	<1.30	<1.30	<1.30	37.15	211.77	2.81	3.04	4.5	2.22	2.46	1.42	<1,30	42.56	<1,30	<1,30	19.04	<1,30	<1,30	<1,30
benzo(j)fluoranteno	2.81	1.97	1.68	2.04	1.35	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	15.05	97.93	<1,30	2.32	2.49	1.82	<1,30	<1,30	<1,30	32	<1,30	<1,30	2.94	<1,30	<1,30	<1,30
benzo(k)fluoranteno	2.17	1.9	1.43	1.8	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	<1.30	15	85.6	<1,30	2.35	2.56	1.41	<1,30	<1,30	<1,30	32.15	<1,30	<1,30	4.13	<1,30	<1,30	<1,30
benzo(e)pireno	4.71	4.38	3.2	4.01	2.14	2.31	1.64	<1.30	<1.30	<1.30	32.53	173.71	2.61	3.72	4.93	2.73	1.69	1.91	<1,30	77.41	<1,30	<1,30	28.11	<1,30	<1,30	<1,30
benzo(a)pireno	4.8	5.47	3.6	4.11	2.45	2.54	1.89	<1.10	<1.10	<1.10	32.15	193.38	2.63	3.9	3.87	3.26	1.9	2	<1,10	51	<1,10	<1,10	13.43	<1,10	<1,10	<1,10
perileno	7.49	3.7	4.24	6.01	1.31	3.88	17.55	<1.20	<1.20	<1.20	25.05	57.7	9.36	24.53	13.89	7.86	5.33	3.79	<1,20	33.69	2.96	<1,20	18.72	<1,20	<1,20	<1,20
indeno[1,2,3-c,d]pireno	4.54	3.39	3.32	4.26	2.23	2.12	1.61	<1.00	<1.00	<1.00	30.48	139.06	2.49	4.27	4.43	3.11	2.02	1.65	<1,00	44.17	<1,00	<1,00	10.65	<1,00	<1,00	<1,00
dibenzo[a,h]antraceno	1.14	1.35	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	<1.00	9.79	45.5	<1,00	1.08	1.45	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	19.13	<1,00	<1,00	6.16	<1,00	<1,00	<1,00
benzo[b]criseno	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	<1.10	5.87	30.05	<1,10	<1,10	<1,10	<1,10	<1,10	<1,10	<1,10	10.05	<1,10	<1,10	3.1	<1,10	<1,10	<1,10
benzo[g,h,i]perileno	5.86	5.64	3.67	4.85	2.53	2.3	1.8	<1.20	<1.20	<1.20	25.2	98.5	2.34	3.66	4.59	2.89	1.49	1.42	<1,20	33.11	<1,20	<1,20	14.53	<1,20	<1,20	<1,20
coroneno	2.03	2.05	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	<1.20	3.55	8.81	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	<1,20	6.03	<1,20	<1,20	2.65	<1,20	<1,20	<1,20