



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Campus do Litoral Paulista



Avaliação Ecotoxicológica do Óleo de Derramamentos Ambientais no Nordeste Brasileiro em 2019 expondo *Artemia* sp

Murilo Vieira Guimarães

São Vicente

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Campus do Litoral Paulista

Murilo Vieira Guimarães

Avaliação Ecotoxicológica do Óleo de Derramamentos Ambientais no Nordeste Brasileiro em 2019 expondo *Artemia* sp.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da UNESP – Campus do Litoral Paulista para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, modalidade Biologia Marinha.

Orientador: Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

Coorientador: Dr. Caio Cesar Ribeiro

São Vicente

2023

G963a

Guimarães, Murilo Vieira

Avaliação Ecotoxicológica do Óleo de Derramamentos Ambientais no Nordeste Brasileiro em 2019 expondo Artemia sp / Murilo Vieira Guimarães. -- São Vicente, 2023

31 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientador: Denis Moledo de Souza Abessa

Coorientador: Caio Cesar Ribeiro

1. Hidrocarbonetos. 2. Ecotoxicologia. 3. Poluição Marinha. 4. Água Controle de qualidade. 5. Desastre Ambiental. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Agradecimentos

Gostaria de iniciar os agradecimentos com a minha mãe Gilza, meu pai Marco e minha irmã Mariana, que me incentivaram a persistir em meu sonho de infância de seguir o ramo da biologia. Pessoas essas que mesmo com todas as desavenças continuam sempre mostrando seu amor e seu carinho constante por mim mesmo eu não sendo uma pessoa tão presente em suas vidas nos últimos anos. Sou eternamente grato por tudo que vocês me proporcionaram ao longo de todos esses anos. Espero que saibam que vocês têm um espaço no meu coração pelo resto de minha vida independente do que aconteça.

Agradeço também aos meus amigos Lorraine, Maria Júlia, Marcelo, Gabriel, Beatriz, Luma e principalmente a Vitória. Amigos esses que estavam ao meu lado em épocas em que nos apoiávamos para que todos conseguíssemos seguir nossos sonhos. Amo que nossa amizade dura até hoje, anos após o término do colegial e espero levar vocês ao meu lado por muitos mais anos, mesmo que à distância já que tem uma galera que é internacional né.

Assim como agradeço a enorme família que fiz ao chegar na UNESP. Agradeço aos meus "pais, mães e avó" Futurama, Kety, Siri, Carie e Trypa que me acolheram no início e foram pessoas que proporcionaram lembranças incríveis que vou levar para o resto da minha vida. As minhas amigas eternas da "Mango: Geração Manga Rosa" que formaram minha primeira república: Poka, Miliante, Brekada, Tique Taque e Rã-de-Bol. Sou muito grato por terem me acolhido nessa república e criado tantas memórias juntas que me trazem tanto amor e nostalgia toda vez que lembro. Principalmente a Poka que está ao meu lado desde meu primeiro dia de faculdade até hoje, formando não somente a república mango mas todas as outras em que eu morei, amiga, você não faz ideia do quanto eu te amo, você é a pessoa mais especial que a UNESP me apresentou, vou ser uma pessoa completamente sortuda tendo sua amizade pelo resto da minha vida. Agradeço também a alguns colegas de turma que facilitaram minha passagem na graduação Busçòla, Arebaba e Murta que me aguentavam durante nossos trabalhos e saídas de campo.

Agradeço também as pessoas que encontrei e me aproximei por conta dos órgãos e projetos da faculdade PET e Lateria. Do PET em especial a Cuala, a Nadela, a Lua e a Tubo que me proporcionaram momentos memoráveis cheios de diversão e amizade, tenho muita saudade de todas vocês e também posteriormente a Amazonas que foi uma amizade que eu não esperava que chegaria a se concretizar, fico muito feliz de ter tido tempo o suficiente pra te conhecer. E da Lateria em especial a Leihdy, o Loireal, a Mocreia, o Batata, a Putrefa, a Terrorista, a Papa, a Gorote que no meio de musicas e risadas acabamos melhorando juntos a tocar na bateria e também a entender o quanto a lateria pode ser uma família.

Agradeço também ao grupo de amigos mais louco que eu já conheci na minha vida, e que eu fico completamente grato de estar inserido nesta loucura. Os Biricomigos, que em meio a tanta gritaria a gente sempre acaba se abraçando e fortalecendo nosso amor, vocês estão ocupam uma parte imensa no meu coração. Em especial alguns nomes: o Patum que tem um coração enorme e sempre está disposto a ajudar os outros, você é uma pessoa incrível, espero que saiba; o Btum; a Bugada; a Sentauro; a Dislokada; o Diarreia; a Malagueta; a Sidéh, famosa tia dos meus gatos, amei muito me aproximar mais de você; o Bijú; a Duida; e o João.

Agradeço também a algumas amizades que encontrei no meio do caminho: A Quinn; o Gotinha; o Lucas e O Charel. Pessoalmente achei inesperado, mas fico feliz de ter encontrado vocês no meio dessa caminhada, esses últimos anos não teriam sido o mesmo sem vocês.

Por fim agradeço imensamente a toda equipe do laboratório NEPEA. Em específico ao meu Orientador Denis, ao meu Coorientador Caio, a Xepa e a BamBam, que me acolheram de braços abertos para dentro do laboratório permitindo a realização deste trabalho. Agradeço especialmente ao Caio que sempre se colocou a disposição para me ajudar além dos assuntos do laboratório, te considero como um amigo muito especial que o ano de 2022 trouxe para mim, espero que você seja muito feliz, porque você merece.

RESUMO

Acidentes ambientais por derramamento de óleo geram diversos impactos ambientais a biota, como mortalidade, recobrimento, intoxicação e até mesmo efeitos mutagênicos e carcinogênicos, devido à presença de compostos como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e os hidrocarbonetos alifáticos (HAs), que em sua forma bruta ou intemperizada podem apresentar periculosidade ao ambiente. O derramamento de óleo ocorrido na costa brasileira desde meados de 2019 foi considerado o maior já ocorrido no país, tendo sido agravado pela má gerência vinda do governo vigente causando diversos problemas para o ambiente marinho e para a população da área afetada. Este trabalho avaliou a toxicidade de frações solúveis em água (FSA) obtidas de óleos encontrados nas praias de Arraial da Ajuda e Massarandupio, Bahia - Brasil, usando como organismo teste *Artemia* sp. Realizamos a solução estoque de FSA e preparamos as concentrações 0,01; 0,1; 1; 10; e 100% para ambas as amostras além de obter os parâmetros físico-químicos. Para melhor entendimento dos resultados, comparamos a toxicidade com a composição química do óleo, feita pelo Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo por meio da cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização de chama e a um espectrômetro de massa (FID-GC-MS). Contudo foi observado que os óleos das duas praias escolhidas apresentam origens diferentes, ambas com componentes mais próximos de óleo bruto. Tal característica pode ser explicada pela conformação de aglomerados que protegem os compostos no interior do óleo. Além disso, foi possível observar que o óleo coletado em Arraial da Ajuda teve toxicidade significativa somente na concentração de 100% (CEO), o que não ocorreu com o óleo de Massarandupio o qual não apresentou resposta significativa de toxicidade nas concentrações testadas. Além disso, é importante ressaltar a necessidade de futuros trabalhos com outros organismos teste e sob possíveis efeitos inibitórios, aditivos ou sinérgicos.

Palavras-Chave: Hidrocarbonetos; Microcrustáceos; Toxicidade.

Environmental accidents involving oil spills cause a range of environmental impacts on the biota, such as mortality, coating, intoxication, mutagenic and carcinogenic effects, due to the presence of compounds such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and aliphatic hydrocarbons (HAs), which in their raw or weathered form may be hazardous to the environment. The oil spill of mysterious origin that affected the Brazilian coast since mid-2019 was considered the largest ever in the country, having been aggravated by poor management by the government at the time, causing several problems for the marine environment and for the population of the affected area. This study evaluated the toxicity of water-soluble fractions (WSF) obtained from oils found on the beaches of Arraial da Ajuda and Massarandupió, Bahia - Brazil, using the brine shrimp *Artemia* sp. We prepared the WSF stock solution and prepared the concentrations of 0.01; 0.1; 1; 10; and 100% for both samples, and measured the physicochemical parameters. For a better understanding of the results, we compared toxicity with the chemical composition of the oils, carried out by the Oceanographic Institute of the University of São Paulo using gas chromatography coupled to a flame ionization detector and a mass spectrometer (FID-GC-MS). However, it was observed that the oils from the two chosen beaches have different origins, both with components closer to crude oil. This characteristic can be explained by the formation of agglomerates that protect the compounds inside the oil. In addition, the oil collected in Arraial da Ajuda had significant toxicity at the concentration of 100% (CEO), while the WSF from the Massarandupio oil which did not cause significant toxicity in all tested concentrations. It is important to emphasize the need of further studies including with other sensitive test organisms and considering possible inhibitory, additive or synergistic effects.

Keywords: Hydrocarbons; Microcrustaceans; Toxicity.

1. Introdução

1.1 Óleo e o Intemperismo

Acidentes ambientais por derramamento de óleo geram diversos impactos ambientais a biota, como mortalidade, recobrimento, intoxicação e até mesmo efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos (Savitz & Andrews, 1997; Baan et al., 2009). Dentro deste contexto temos vários exemplos de grandes desastres ao longo de todo o mundo, como o que ocorreu com a embarcação Exxon Valdez em 24 de março de 1989, onde 42 milhões de litros de petróleo bruto foram derramados na costa do Alasca (Peterson et al., 2003) causando, entre outras enfermidades, uma mortalidade em massa de aproximadas 2800 lontras marinhas (Garrott et al., 1993) e um número estimado de 250.000 aves marinhas (Piatt & Ford, 1996) que foram documentados nos dias posteriores ao acidente. Outro desastre de natureza similar ocorreu em 20 de abril de 2010 onde uma explosão na plataforma de perfuração Deepwater na área leste do Mississippi Canyon no norte do Golfo do México causou a liberação de 3,19 milhões de barris (aproximadamente 500.000 m^3) de óleo no oceano, além de várias centenas de milhares de toneladas de gases de hidrocarbonetos, tal desastre teve entre outras consequências, impacto direto em corais a uma profundidade de 1.370 m além da distância de 11 km do local da explosão (White et al., 2012), além de impactos severos em estuários, praias, costões e outros ambientes costeiros do Golfo do México.

Contudo se faz necessário um órgão internacional para gerir e proteger o meio ambiente marinho global. Dentro deste contexto a Organização das Nações Unidas (ONU) em 1948 criou a Organização Marítima Internacional (IMO) com os intuitos principais de: promover mecanismos de cooperação; garantir a segurança marítima e a prevenção da poluição; e garantir a remoção dos óbices ao tráfego marítimo (Marinha do Brasil, 2023). A IMO, desde sua criação, começou a se importar cada vez mais com o transporte de grandes volumes de petróleo por navios-tanque, e posteriormente, acabou por organizar a Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição por Navios (MARPOL) com o intuito de prevenir acidentes com os meios navios e minimizar suas consequências (Walker et al., 2019).

Impactos ambientais relacionados ao petróleo não são preocupantes somente pela sua grande extensão. A composição química do petróleo bruto, seus derivados e também os subprodutos gerados pelo intemperismo tem grande periculosidade para uma vasta gama de organismos, incluindo a espécie humana. A composição do petróleo em si é complexa e nem todas suas substâncias são amplamente estudadas para a avaliação de impactos ambientais e identificação das fontes. As substâncias mais conhecidas para as funções precitadas são os

hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), os hidrocarbonetos alifáticos (HAs) e os biomarcadores de petróleo (Reyes et al., 2014; Stogiannidis & Laane, 2015; Nelson et al., 2016).

Os hidrocarbonetos resultantes do petróleo bruto e de seus derivados estão entre os mais amplamente distribuídos no meio ambiente (Stogiannidis & Laane, 2015; Nelson et al., 2016). Sua distribuição e ação bioquímica estão diretamente relacionadas às propriedades físico-químicas de tal modo que é possível estimar tais informações por meio de cálculos se utilizando de coeficientes específicos (constante de Henry (KH), coeficiente de partição de carbono (Koc)). As características como a solubilidade, a biodisponibilidade e consequentemente a toxicidade dos hidrocarbonetos leves acaba por serem maiores quando comparados com os hidrocarbonetos pesados (Alford et al., 2015).

Quando o óleo entra em contato com o meio ambiente e é transportado acaba por sofrer efeitos do intemperismo, influenciando diretamente em suas propriedades (Figura 1). Como consequência, ocorrem alterações não somente em sua composição, mas também na forma como estes contaminantes interagem com o ambiente e os organismos. Assim, os diferentes fatores ligados ao intemperismo acabam por alterar alguma característica do óleo, e como consequência, peculiaridades específicas dessa complexa mistura (Schwarzenbach et al., 2017). A evaporação acaba por remover componentes leves que têm uma baixa pressão de vapor (Fingas, 2015). A dissolução interage com esta mistura complexa de acordo com a solubilidade em água de cada substância, sendo mais significativa em heterocompostos, e menor em hidrocarbonetos aromáticos, enquanto hidrocarbonetos saturados são bem menos solúveis quando comparado com os compostos precitados. A biodegradação acaba removendo principalmente os hidrocarbonetos de cadeia linear e, consecutivamente, os hidrocarbonetos saturados ramificados, os isoprenóides: pristano e fitano. Estes últimos dois acabam então sendo importantes indicadores deste intemperismo específico. A degradação microbiana é um fator que pode ter sua intensidade quantificada quando se analisa perda relativa de n-C₁₇ e n-C₁₈ em comparação com a perda de pristano e fitano (Guo et al., 2010). Por fim, a foto-oxidação é um fator relacionado somente quando há contato com luz solar, sendo mais intenso na porção superficial do filme de óleo, neste caso os compostos menos resistentes são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), como o metil pireno, tendo um padrão de redução específico de 1-metil-pireno > 4-metil-pireno > 2-metil-pireno (Ali et al., 1995). Em todos os processos de intemperismo citados, as maiores incidências ocorrem nas primeiras horas ou dias após o derramamento (Fingas, 2015).

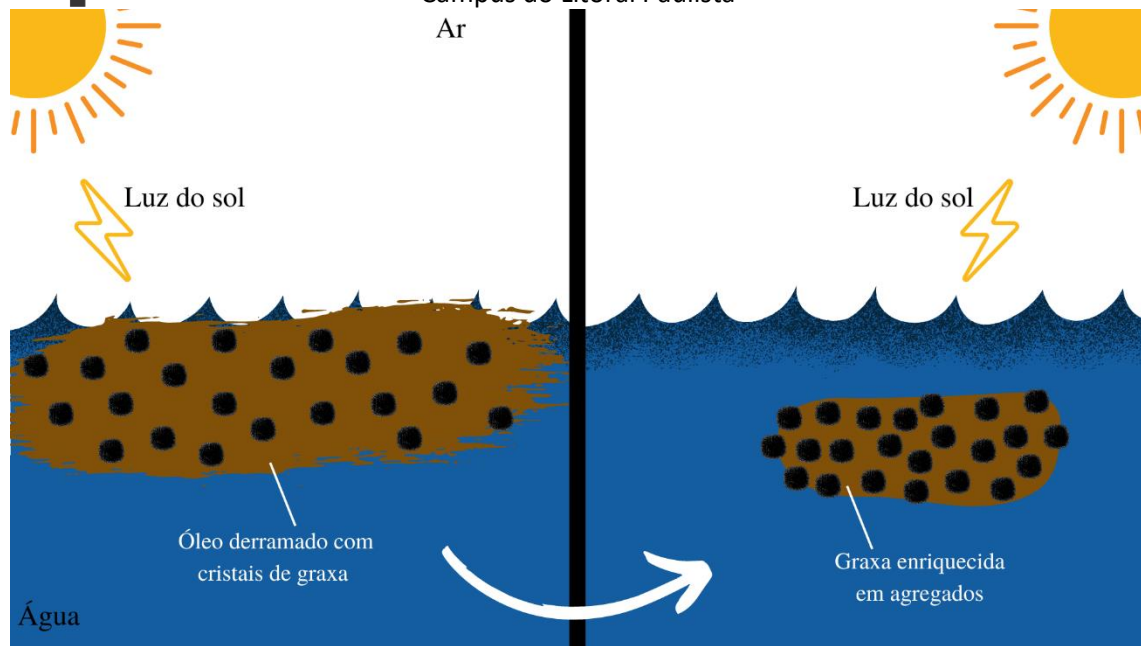


Figura 1: Mecanismo para redistribuição de componentes de graxa e formação de agregados enriquecidos com graxa. Fonte: adaptado de Lourenço et al., 2020.

1.2. Efeitos do Óleo em Ambientes e Organismos

O óleo causa diversos problemas para o meio ambiente, para os organismos e para a saúde pública, variando suas consequências dependendo da composição. Seus riscos à saúde pública, agudos e crônicos, são graves podendo levar a morte por intoxicação, tal periculosidade pode ser associada aos compostos aromáticos presentes no óleo (Pena et al., 2020).

Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) são conhecidos por sua relação com algumas enfermidades em humanos como o câncer, a toxicidade hematológica e imunológica e a disfunção renal mesmo quando existe um baixo nível relativo de exposição a tais compostos (Savitz & Andrews, 1997; Baan et al., 2009; Chang et al., 2010), além de sua correlação com alterações hepáticas e hormonais, irritação respiratória e transtornos mentais (como depressão), que são outras mazelas que já tiveram sua correlação amplamente descritas pela literatura (Palinkas et al., 1993; Gillis et al., 2007). Os HPAs são outros componentes do óleo que também já tem sua correlação com o câncer, e com alterações nas funções reprodutivas e imunológicas em mulheres e em homens (Aguilera et al., 2010), o que sinaliza um maior perigo para mulheres grávidas e crianças (Ha et al., 2013). Já o sulfeto de hidrogênio tem maior interferência crônica e aguda no sistema nervoso central, sendo correlacionado à cefaleia, ao déficit de atenção e ao comprometimento da memória (Palinkas et al., 1993).

Além de todas essas interações resultantes da toxicologia desses compostos do óleo, sabe-se que os metais e metaloides (como arsênico, cobre, níquel, chumbo, etc.) encontrados no petróleo bruto causam lesões renais, e apresentam característica neurotóxica, carcinogênica e imunotóxica (Cseh et al., 2009).

Quando focamos no equilíbrio ecológico afetado por derramamento de óleo a literatura acaba por apontar a dificuldade de se estimar a real extensão e força de tal impacto que pode durar décadas por sofrerem biomagnificação ao longo da cadeia trófica local. Tal característica, quando correlacionada à saúde pública acaba sendo muito preocupante, pois se a biomagnificação ocorrer próximo a comunidades dependentes do ambiente para seu sustento, a população acaba sendo afetada diretamente por tal desastre, através do consumo de organismos contaminados. Outro agravante que o óleo pode trazer para o ecossistema costeiro é quando causa efeitos agudos nos corais, já se sabe que a interação entre os corais e o óleo é intensamente negativa, causando um rápido declínio nos recifes (Loya & Rinkevich, 1980; Hughes et al., 2017) podendo resultar em um colapso do ecossistema local (Loya & Rinkevich, 1980) e uma súbita diminuição na diversidade de espécies (Jackson et al. 1989, Guzmán et al., 1991).

1.3. Caracterização do Impacto

O período de agosto de 2019 a janeiro de 2020 foi marcado por alarmantes quantidades de petróleo com um aspecto de conglomerados (Figura 2) se acumulando desde as praias do nordeste brasileiro até a porção norte da região Sudeste. Em sua totalidade foram confirmados mais de 1000 locais atingidos por manchas ou resíduos de óleo ao longo de 11 estados brasileiros (Figura 3), tal impacto ficou conhecido como o maior dentre as ocorrências em oceanos tropicais, não por seu volume (estimado entre 5000 m³ a 12000 m³), mas sim por sua grande extensão (2890 km) (Escobar, 2019; Disner & Torres, 2020; Magris & Giarrizzo, 2020; Soares et al., 2020 a, b). O que só se agrava pelo histórico de outros impactos que ocorreram dentro desta área, como o rompimento das barragens de Mariana (Disner & Torres, 2020).

Mesmo com as prefeituras e a Petrobras se mobilizando para a retirada das porções de óleo, a maior porcentagem desta coleta foi realizada por voluntários civis e por organizações não governamentais (ONGs), muitas das vezes sem apoio público e sem equipamentos de proteção apropriados. Esta falta de mobilização do governo nacional na época foi exposta por alguns pesquisadores, entre eles Brum et al. (2020) e Soares et al. (2020).

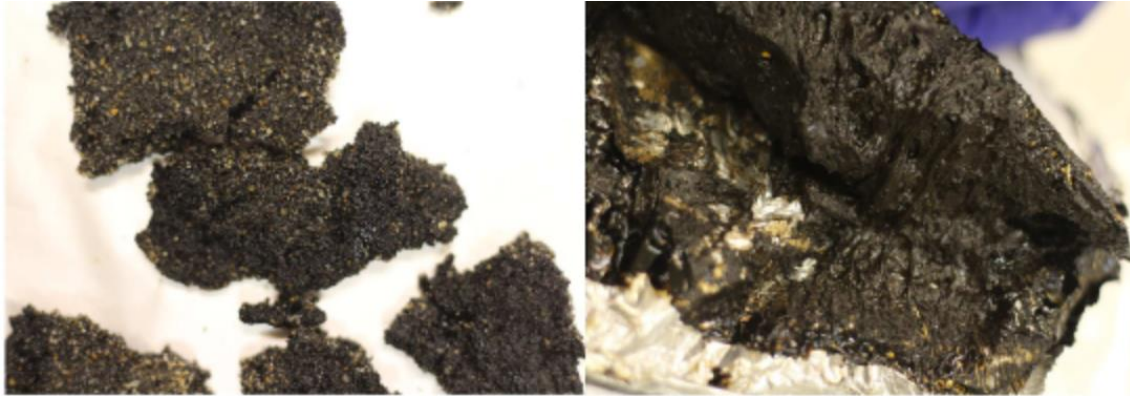


Figura 2: Óleo em “conglomerados” encalhado nas praias brasileiras. Fonte: Imagens retiradas de Lourenço et al., 2020.

Até o momento da publicação do relatório do Instituto Brasileiro de Órgão Ambiental (IBAMA) o derramamento já havia comprometido a saúde de 144.000 pescadores artesanais, os quais tinham jornadas semanais de aproximadas 100 horas, onde sua renda familiar era baseada na captura de peixes e mariscos em áreas arenosas de praia, manguezais e estuários. Ambientes estes que sofreram contaminação (Pena & Gomez, 2014; Rêgo et al., 2018) totalizando aproximadas 724 áreas. Considerando a extensão e a população afetada, este desastre se equivaleu a centenas de refinarias e petroquímicas, com o agravante da ausência da proteção do setor de saúde. Mesmo com tantos afetados as mensagens de órgãos governamentais oficiais se mantinham confusas, sendo, portanto, ineficazes ao enfrentamento deste desastre. Notícias falsas e alarmantes ou mesmo posicionamentos subestimando toda situação real foram divulgadas, dificultando o gerenciamento do problema (Pena, 2020).

Além da falta de apoio às famílias locais afetadas pelo desastre, o mesmo descaso ocorreu para com os laboratórios especializados que não receberam recursos que seriam usados para: avaliar a qualidade do pescado para que se pudesse garantir a segurança alimentar sobre o consumo de peixes e mariscos; monitorar os locais afetados; capacitar a população caso haja a necessidade de atendimentos de urgência; entre outros. Em contrapartida as notas que foram emitidas pelos órgãos governamentais só reuniam informações insuficientes publicadas 60 dias após o início do derramamento de óleo (Ministério da Saúde).

Como a coleta deste óleo não foi total, suspeita-se que as porções de óleo que não foram coletadas ainda podem estar presas no sedimento costeiro e marinho raso, bem como se acumulando em estruturas sólidas como recifes de corais mesofóticos, podendo ser

remobilizadas. Tal acúmulo poderia ameaçar os organismos da área quanto das regiões costeiras que podem ser novamente impactadas após eventos meteorológicos energéticos que podem ressuspender este material, o colocando novamente na coluna d'água. (Paixão et al., 2011).



Figura 3: Áreas afetadas pelo óleo (pontos verdes) ao longo da costa do Brasil, conforme registrado oficialmente de 30 de agosto de 2019 a 14 de fevereiro de 2020. Os números de 01 a 11 (em círculos vermelhos) indicam os locais de amostragem de Lourenço (2020). Legenda: SEC = ramo sul da Corrente Sul Equatorial; NBC = Corrente Norte do Brasil; BC = Corrente do Brasil; Sol: pontos 01 e 05 que utilizamos neste trabalho.

Fonte: modificado do IBAMA (2020) por Lourenço et al. (2020).

1.4. Origem do Óleo

A origem deste desastre então começou a ser apurada e, portanto, algumas suposições de seu epicentro foram levantadas para facilitar o procedimento de busca. Entre elas quatro foram as mais aceitas pela comunidade científica naquele momento: (1) origem de fontes naturais como locais de infiltração do assoalho oceânico no Brasil ou na África; (2) origem por derramamento de plataformas no Brasil ou na África; (3) origem por derramamento (intencional ou não) de navios em trânsito na costa brasileira; e (4) origem causada por naufrágios (recentes ou antigos) (Escobar, 2019; Soares et al., 2020a, b). Após a comparação de análises geoquímicas e de biomarcadores deste óleo com algumas bacias sedimentares foi descoberta uma alta compatibilidade do óleo para com as bacias petrolíferas sedimentares venezuelanas, como o óleo de Ayacucho da formação Naricual na bacia oriental venezuelana. (Lourenço et al., 2020; Oliveira et al., 2020; Carregosa et al., 2021; Zacharias et al., 2021a, b). O que resultou no descarte das duas primeiras hipóteses precitadas.

Após tais discussões a polícia federal concluiu que o óleo foi originado de um navio grego. Além disso a polícia federal calculou o prejuízo mínimo causado por tal despejo, validado como R\$ 188 milhões para o governo federal além do adicional que seria calculado pensando em outros fatores como os prejuízos às comunidades pesqueiras e ao turismo (Polícia Federal, 2021). Entretanto, em um estudo recente, Reddy et al., (2022), utilizaram um amplo conjunto de ferramentas e abordagens geoquímicas, e apontaram que fonte do óleo possivelmente é a mesma que as dos fardos de borracha que vêm chegando ao nordeste desde 2018, provenientes do naufrágio do SS Rio Grande, e de outros navios afundados durante a Segunda Guerra Mundial (1939-1945) em águas internacionais no Atlântico Sul, sendo necessárias mais investigações para confirmar a fonte do óleo.

Tendo como base que os HPAs e os hidrocarbonetos provenientes do petróleo causam toxicidade sobre diversas espécies, e que tais efeitos não foram devidamente analisados pelo Grupo de Acompanhamento e Avaliação (GAA) nomeado pelo Governo Federal para realizar as ações de resposta e monitoramento, a hipótese deste trabalho é que o óleo que atingiu a costa possui capacidade de causar efeito tóxico para microcrustáceos como a *Artemia sp.*

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste projeto foi avaliar a toxicidade de frações solúveis em água (FSA) do óleo de origem misteriosa que atingiu as praias do Nordeste tendo como organismo teste o microcrustáceo *Artemia* sp.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a toxicidade de FSA de amostra de óleo da Praia de Massarandupio expondo à *Artemia* sp;
- Avaliar a toxicidade de FSA de amostra de óleo da Arraial da Ajuda expondo à *Artemia* sp.;
- Comparar a toxicidade das FSA com as análises químicas disponíveis na literatura.

3. Materiais e Métodos

3.1 Caracterização das Amostras

As amostras que foram coletadas em Arraial da Ajuda e na praia de Massarandupio, no estado da Bahia - Brasil (Figura 3) foram embaladas em recipientes de vidro, armazenadas e levadas ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo para que fosse feita a avaliação química. O protocolo utilizado neste processo é conhecido como uma metodologia forense que é capaz de identificar a origem de óleos resultantes de derramamentos (CEN, 2012; Dahlmann e Kienhuis, 2015). Foi feito a diluição das amostras em diclorometano (na concentração de 10 mg ml⁻¹) e a análise por cromatografia gasosa (GC) acoplada a um detector de ionização de chama (DIC) e a um espectrômetro de massa (MS). Onde a análise GC-MS envolveu HPAs, hidrocarbonetos cíclicos não aromáticos e biomarcadores de petróleo, como hopanos, terpanos e esteranos.

3.2 Preparação das Concentrações

Para prepararmos as concentrações deste experimento foi utilizado como base o método aplicado por Hansen et al. (2013) com algumas modificações devido a quantidade de cada amostra. Método este que foi descrito no "Chemical Response to Oil Spill - Ecological Effects Research Forum (CROSERF)" o qual foi publicado por Aurand and Coelho (1996) e Singer et al. (2000). Dentro disso, se deu início à preparação de uma solução estoque (SE) para cada amostra de óleo, a amostra 1 tendo sido coletada na Praia do Massarandupio, e a amostra 2 em Arraial da Ajuda (praia da Pitinga).

As amostras de óleo foram pesadas em balança de precisão e então transferidas para seus respectivos béqueres, onde foi adicionada água reconstituída com sal marinho RedSea (salinidade 35) até alcançar a proporção óleo:água à 1:9. Após alcançada a proporção, os béqueres foram encaminhados para agitadores magnéticos por 20h à uma agitação de baixa energia aproximadamente de 160 rpm. Em seguida as misturas foram mantidas em repouso por duas horas para que houvesse a decantação, facilitando a posterior coleta da camada aquosa (FSA). Após tal período a porção aquosa subsuperficial foi coletada, devidamente “etiquetada” e encaminhada a geladeira até o momento de sua utilização no experimento, sendo estas as SE de cada amostra.

Após a realização das soluções estoque foram preparados dois testes com a SE da praia de Arraial da Ajuda sendo as concentrações 0,01; 0,1; 1; 10; e por fim 100% no primeiro teste e 0,01; 0,1; 1; 10 no segundo, e um controle com água do mar reconstituída (salinidade 35). A ausência da porcentagem de 100 no segundo teste se deu pela pouca quantidade de óleo impossibilitando a realização de SE suficiente para todos os tubos de ensaio e medição de parâmetros físico-químicos. Foi realizado o mesmo procedimento com o óleo da praia de Massarandupio sendo feito então um teste com as concentrações de 0,01; 0,1; 1; 10; e 100%. Além de que tais concentrações foram escolhidas após uma comparação com trabalhos já realizados com *Artemia* sp. os quais tinham como concentração máxima a de 10%.

3.3 *Artemia* sp.

A escolha de uma espécie para experimentos ecotoxicológicos em laboratório se dá por características como: facilidade de manutenção em cultivo; tamanho prático para se trabalhar com; e ter um ciclo de vida consideravelmente curto. Exemplos de organismos que apresentam as características precitadas, e já são utilizados amplamente, são os cladóceros, misidáceos, copépodes, anfípodos e artêmias (Rand, 1995; ABNT, 2004; Domingues & Bertoletti, 2008). Além disso, em um estudo em andamento avaliando as toxicidades de FSA obtidas do óleo que atingiu o NE, a espécie apresentou-se entre as mais sensíveis às FSA¹.

Especificamente a *Artemia* sp. (Figura 4) é um microcrustáceo, portanto é pertencente ao filo Arthropoda e à classe Crustácea, quando especificamos mais sua classificação têm-se a ordem Anostraca e, por fim, a família Artemidae (Leach, 1819). Esses organismos são cosmopolitas sendo encontrados nos cinco continentes, em lagos de águas salgadas e salinas, sendo

¹ Pesquisa de Mestrado da aluna Debora Santana, do IB/CLP – UNESP.

eurialino em relação à amplas variações devido às estações do ano. Sendo assim um dos organismos que podem ser afetados pelos desastres ambientais decorrentes pelo derramamento de óleo. A característica cosmopolita e a facilidade de coleta de seus cistos facilitaram para que estes organismos fossem usados em testes de toxicidade envolvendo uma gama ampla de produtos (pesticidas, petroquímicos, dispersantes, metais pesados, metabólicos de microrganismos, e produtos carcinogênicos) desde 1950. No cenário brasileiro a *Artemia* sp. começou a ser utilizada pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) como tal poucas décadas após, por volta de 1987.

Para um melhor entendimento do momento de desenvolvimento da *Artemia* sp. deve-se primeiro compreender algumas características deste organismo. Sendo assim, sabe-se que esses animais dependem da formação de ovos para que ocorra seu desenvolvimento embrionário, onde após seu desenvolvimento interno, ocorre a eclosão e, então liberando o náuplio na coluna d'água. Durante as primeiras 24 h este organismo consome o vitelo (reserva energética interna) e por essa razão não realiza a filtração. Estes fenômenos nas primeiras horas de desenvolvimento do organismo os deixam mais protegidos a contaminantes no ambiente (Sorgeloos *et al.*, 1978). Após este período o náuplio acaba por se desenvolver para uma fase que se chama metanáuplio, e é neste período que se inicia a filtração, criando então uma conexão maior do meio interno para o meio externo do animal, resultando em uma maior sensibilidade a contaminantes (Sorgeloos *et al.*, 1978).

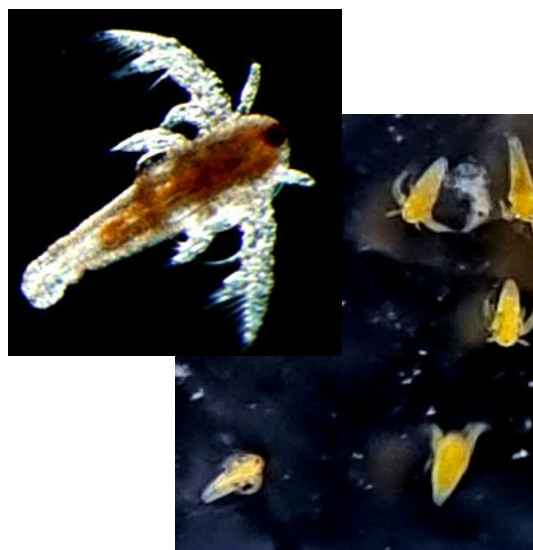


Figura 4: Imagem de um exemplar de *Artemia* sp. em sua fase de metanáuplio.

Em datas mais recentes esses organismos acabam por ser menos utilizados em comparação à misidáceos e copépodos (outros microcrustáceos) por conta da menor sensibilidade a contaminantes (Veiga & Vital, 2002).

3.4. Teste de Toxicidade aguda com *Artemia* sp.

Os testes realizados foram baseados na metodologia adaptada de Veiga & Vital (2002). Foram utilizadas 4 réplicas por concentração em cada teste, com 10 indivíduos na fase de metanáuplio II por tubo de ensaio. Foram realizados os parâmetros físico-químicos de temperatura com termômetro de mercúrio, salinidade com refratômetro e pH com pHmetro. Foi preparada uma água reconstituída com sal marinho da marca RedSea (salinidade 35) para a realização das diluições e dos testes, essa água ficou em repouso por no mínimo 24 h sob aeração constante para garantir oxigenação superior a 5 mg/L de O₂. Após 24 e 48 h cada tubo foi avaliado em relação a mortalidade/imobilidade dos indivíduos.

3.4. Estatística

Os dados foram tratados no programa estatístico PAST (Hammer et al., 2001). O cálculo da concentração letal a 50 % dos organismos (CL50) 24 e 48 h foi realizado no programa R Studio. A normalidade foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade pelo teste de Levene, quando os dados foram paramétricos foi aplicado o teste t'-student, quando os dados foram não paramétricos foi aplicado um teste de Mann-Whitney para a determinação da concentração de efeito observado (CEO) e concentração de efeito não observado (CENO), quando possível.

4. Resultados

4.1 Química das amostras

Com os cromatogramas (GC e DIC) realizados pelo Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (Lourenço et al., 2020), foi observado a equidade perante a proporção de seus compostos (Tabela 1) de 10 das 11 amostras, onde tal descrição química se assemelha ao de petróleo bruto (CEN,2012), sendo o óleo de Arraial da Ajuda o único divergente (Fig 2 e Fig 3). Além disso, nestas 10 amostras observou-se outras características como a presença de HAS leves (decalinas (m/z 138, 152, 166), naftalenos (m/z 128, 142, 156)), e a de 1-metilpireno (1-Mpy) e seu homólogo 2-metil-pireno (2-Mpy) em parcelas semelhantes (Fig 4). Contudo, uma informação notável é a ausência de misturas complexas.

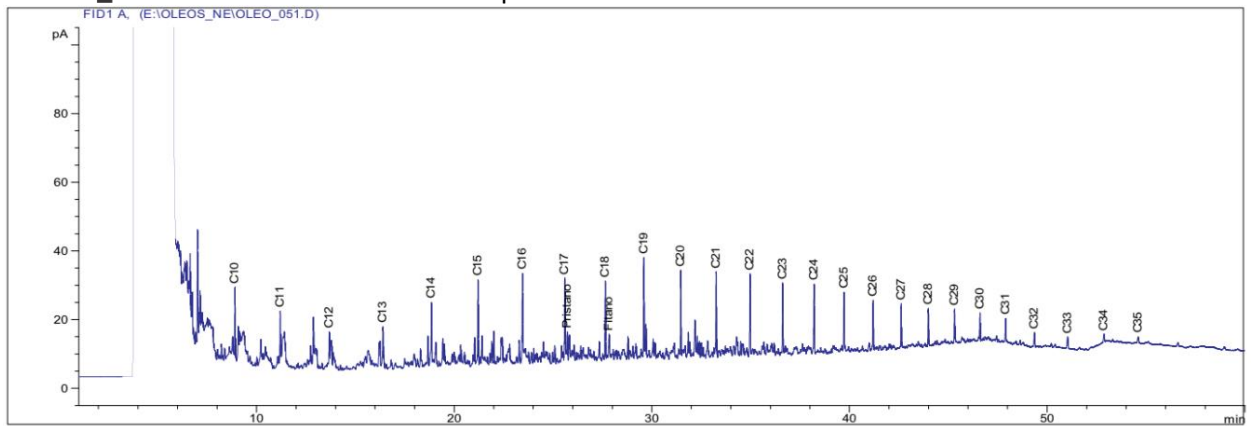


Figura 5: Cromatograma GC-FID típico do óleo encontrado em praias do nordeste do Brasil em 2019. Fonte: Lourenço et al. (2020).

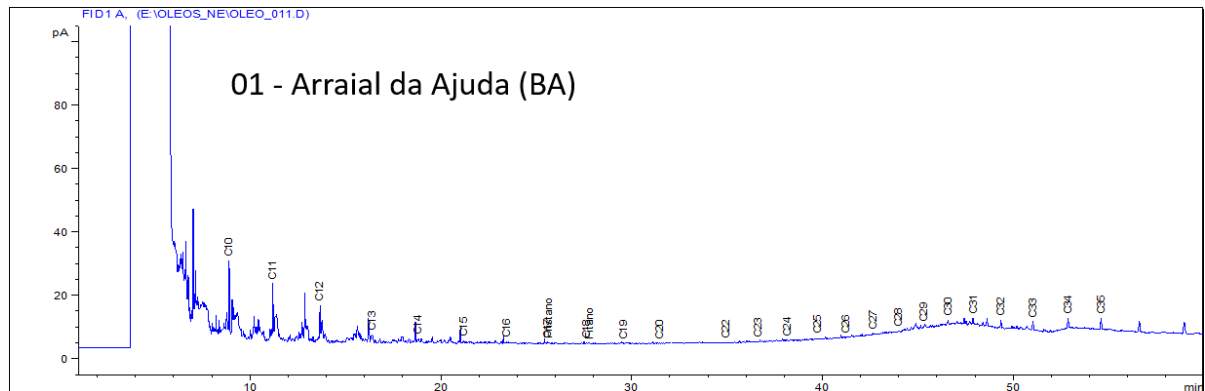


Figura 6: Cromatograma GC-FID do óleo coletado em Arraial da Ajuda -BA. Fonte: material complementar online de Lourenço et al. (2020).

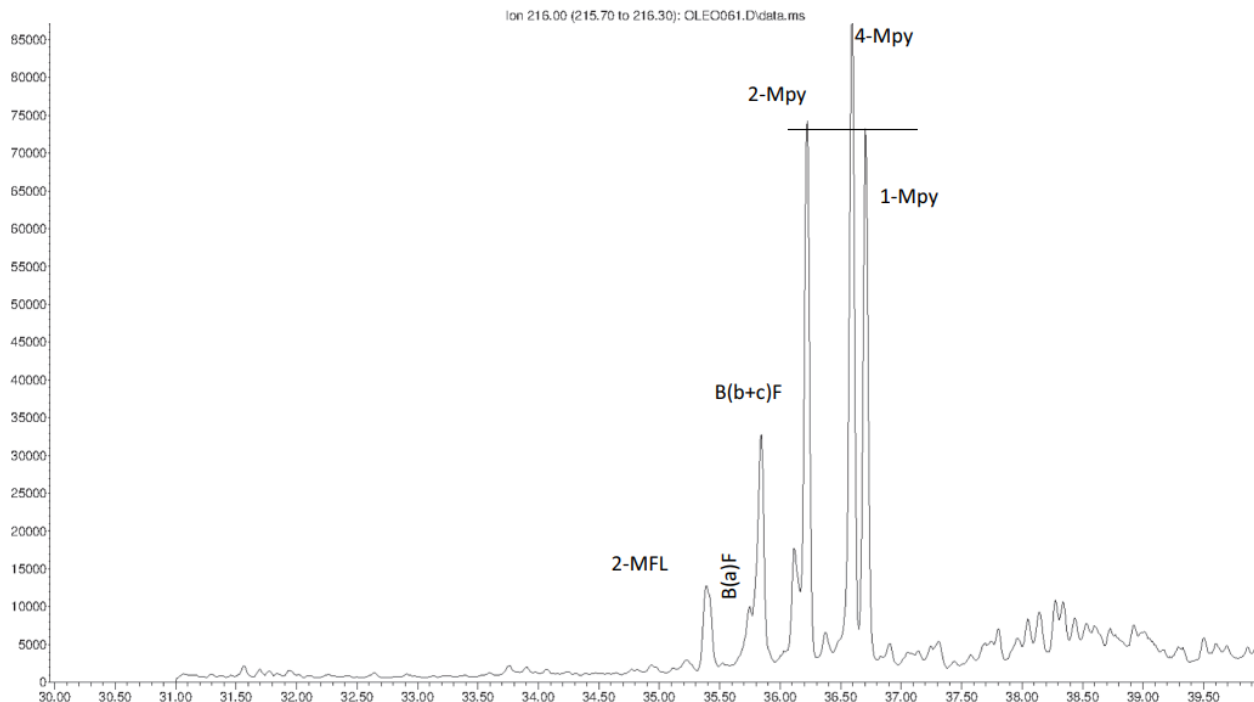


Figura 7: Comparação dos picos de alquilpireno (m/z 216). O mesmo padrão foi observado em outras amostras de óleo. Legenda: MFL = metil-fluoranteno; B(a)F = benzo(a) fluoranteno; B(b + c)F = benzo(b + c)fluoranteno; MPy = metilpireno; Linha preta horizontal= demonstra semelhança na quantidade de 2-Mpy e 1-Mpy. Fonte: Lourenço et al. (2020).

Tabela 1: Tabela evidenciando as proporções entre os compostos presentes no óleo das amostras 2 a 11. Portanto contemplando a proporção do ponto de Massarandupio.

Proporções entre os compostos das amostras de óleo dos pontos 02 a 11	
Proporção entre compostos únicos e/ou grupos de compostos	Média
C17/pris	3.721
C18/phy	2.865
pris/phy	2.965
4-MD/1-MD	4.819
2MP/1-MP	4.628
2MF/4-Mpy	3.771
B(a)F/4-Mpy	12.200
B(b+c)F/4-Mpy	11.573
2Mpy/4-Mpy	1.808
1Mpy/4-Mpy	7.460
Renete/T-M-phen	4.961
BNT/T-M-phen	4.717
27Ts/30ab	2.590
27Tm/30ab	2.560
28ab/30ab	7.280
29ab/30ab	3.164
30O/30ab	13.000
31abS/30ab	6.151
30G/30ab	12.900
27dbR/27dbS	6.309
27bb/29bb	1.007
SC26/RC26+SC27	5.453
SC28/RC26+SC27	5.209
SC27/RC26+SC27	4.125
RC28/RC26+SC27	6.107

Fonte: Adaptado do material complementar online de Lourenço et al. (2020).

4.2. Teste de toxicidade aguda com *Artemia* sp.

Nas figuras 8 e 9, são expressos gráficos boxplot das mortalidades das *Artemias* sp. expostas a fração solúvel do óleo encontrado da praia de Arraial da Ajuda. É possível notar que na Figura 8 a única amostra que apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle foi a de 100%, sendo considerada a CEO o CL50 48h foi de 72,19 % (68,16 - 76,23%). Foi feito o mesmo para o óleo da praia de Massarandupio, porém não houve resposta toxicológica significativa em nenhuma concentração, nos evidenciando a baixa sensibilidade da *Artemia* sp. para este óleo. Quando analisamos a Figura 9 percebemos um paralelo semelhante ao encontrado na Figura 8, o que pode nos indicar que se houvéssemos feito a concentração de 100%, a resposta desta porcentagem também seria semelhante e,

portanto, é possível supor que caso houvesse amostra suficiente para executar a concentração 100% haveria uma resposta significativa semelhante ao que ocorreu no primeiro teste.

Na tabela 2 são expressos os resultados dos parâmetros físico-químicos antes e depois do experimento para as Praias de Arraial da Ajuda e Massarandupio. Os dados foram considerados satisfatórios e dentro limite estabelecido pela metodologia de Veiga e Vital (2002).

Tabela 2: Parâmetros de salinidade, pH e Temperatura de ambos os testes.

Massarandupio - Início				Arraial da Ajuda - Início			
%	Salinidade	pH	Temperatura	Salinidade	pH	Temperatura	
Controle	35	8.20	26°C	Controle	35	8.00	26°C
0.01	35	8.10	26°C	0.01	34	8.20	26°C
0.1	36	8.10	26°C	0.1	35	8.10	26°C
1	35	8.10	26°C	1	36	8.10	26°C
10	36	8.00	26°C	10	35	8.10	26°C
100	36	8.20	26°C	100	36	8.20	26°C
Massarandupio - Final				Arraial da Ajuda - Final			
	Salinidade	pH	Temperatura	Salinidade	pH	Temperatura	
Controle	35	8.20	26°C	Controle	35	8.00	26°C
0.01	35	8.00	26°C	0.01	34	7.90	26°C
0.1	36	7.90	26°C	0.1	35	8.10	26°C
1	35	8.00	26°C	1	36	8.10	26°C
10	36	8.00	26°C	10	35	8.10	26°C
100	36	8.10	26°C	100	36	8.00	26°C

Fonte: Elaborado pelo autor.

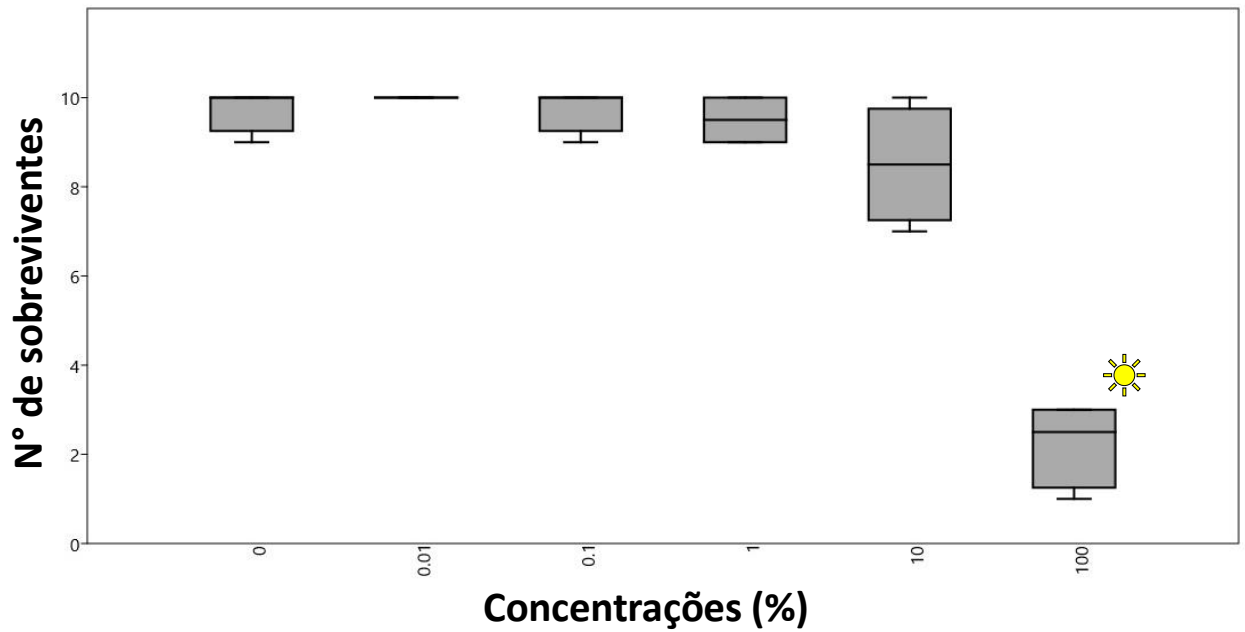


Figura 8: Gráfico em formato boxplot evidenciando a quantidade de *Artemia* sp. que sobreviveram ao teste (eixo y) em comparação a porcentagem de óleo da praia de Arraial da Ajuda (eixo x). Sol: mostra a porcentagem com diferença significativa. Fonte: Elaborado pelo autor.

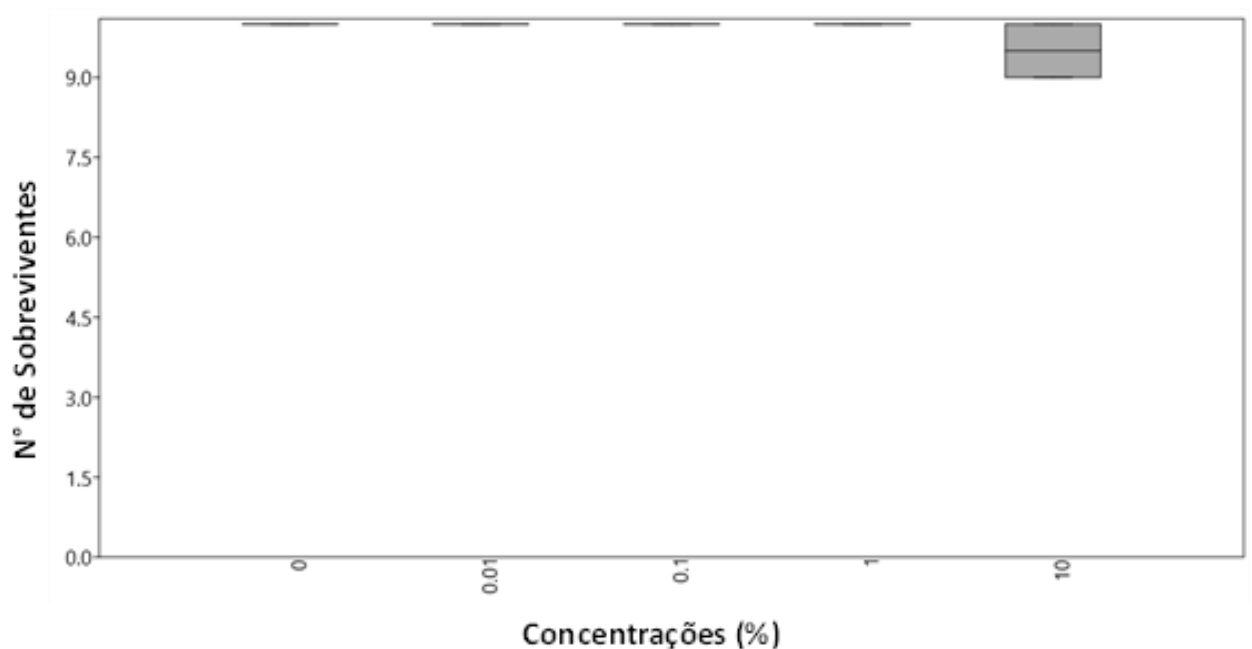


Figura 9: Gráfico em formato boxplot evidenciando a quantidade de *Artemia* sp. que sobreviveram ao teste (eixo y) em comparação a porcentagem de óleo da praia de Arraial da Ajuda (eixo x). Fonte: Elaborado pelo autor.

5. Discussão

5.1 Química das Amostras

As características encontradas na análise das amostras nos permitem concluir que houve um baixo nível de intemperismo durante o transporte do óleo até as praias onde foram coletadas. Tal característica “conservada” pode ser explicada pelo rearranjo dos HAs cerosos devido à precipitação da graxa combinada com a turbulência marítima, o que resultou em um aumento da densidade do óleo (Fig. 1) (Strøm-Kristiansen et al., 1997). A formação deste conglomerado acaba por proteger os hidrocarbonetos dos intemperismos durante seu transporte.

Essa suposição pode explicar não somente as características precitadas, encontradas na análise como também o padrão cromatográfico das amostras, o aspecto sólido do óleo que se acumulou nas praias (Fig. 2), e a presença de 1-metilpireno (1-Mpy) e seu homólogo 2-metilpireno (2-Mpy) em parcelas semelhantes (Fig 7). A proporção de 1-Mpy e 2-Mpy em igualdade corrobora com esta informação, pois o 1-Mpy tem baixa resistência à luz solar, sofrendo foto-oxidação mais rapidamente quando comparado a seus homólogos (Ali et al., 1995).

5.2. Resposta ecotoxicológica

Foi possível observar que o óleo coletado em Arraial da Ajuda teve toxicidade significativa somente na concentração de 100% (CEO), o que não ocorreu com o óleo de Massarandupio o qual não apresentou toxicidade nas concentrações testadas. Santana et al. (2021) testou amostras de óleo diesel e bunker de marcas comerciais comumente usadas em marinas em *Artemia salina*, *Nitokra* sp, *Perna perna* e *Lytechinus variegatus*, seus resultados chegam até a concentração de 10%, a autora observou uma resposta significativa já em porcentagens abaixo de 10% corroborando com estudos em outros crustáceos como o camarão *Palaemonetes pugio* (Rayburn et al., 1996), porém quando se compara com este trabalho, não há igualdade nesta informação, visto que só houve resposta significativa na porcentagem de 100%. A diferença entre os testes evidencia que a diferente origem dos óleos influencia no nível de toxicidade, já que a origem do óleo está diretamente atrelada às proporções de toxicantes presentes no óleo.

Ensaio com misidáceos apresentaram toxicidade de 10 a 1000 vezes maior (Mohammed, 2005), que os encontrados por Santana et al. (2021). Tal diferença já é esperada pelo fato dos

misidáceos serem amplamente estudados e comprovadamente mais sensíveis a muitos contaminantes (Verslycke et al., 2004; De Figueredo et al., 2016).

Pensando nas implicações resultantes pelo derramamento do óleo e o descaso político para com a resolução deste problema, uma possível solução para uma minimização dos danos causados e um melhor enfrentamento de possíveis novas recorrências de desastres desta natureza são as Cartas de Sensibilidade Ambiental a Derramamentos de Óleo (Cartas SAO). Tais cartas são criadas perante a necessidade de planos de emergência para que episódios de poluição sejam minimizados e controlados o mais rápido possível (De Aquino et al., 2013), sendo então um documento cartográfico obrigatório necessário para o planejamento de contingência, na avaliação geral de danos e na gerência de ações de respostas aos impactos por petróleo e derivados (Barbosa et al., 2010). Dentro de todos os usos precitados, tal carta poderia ter sido utilizada para minimizar os impactos causados no derramamento ambiental no Nordeste brasileiro em 2019.

6. Conclusão

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que não houve toxicidade significativa sob as *Artemia* sp. do óleo da Praia de Massarandupio, embora na concentração de 10% tenha havido indícios de toxicidade. Em contrapartida, quando observado os resultados toxicológicos do óleo da Praia da Ajuda observa-se resposta significativa a partir da concentração de 100%.

Ao comparar estes resultados com a bibliografia podemos também concluir que a origem do óleo acaba por influenciar diretamente na resposta toxicológica que um organismo pode apresentar por conta das especificidades em relação à proporção de seus componentes.

Por fim, é importante ressaltar a necessidade de futuros trabalhos com outros organismos teste e sob possíveis efeitos inibitórios, aditivos ou sinérgicos, assim como análises de outras respostas ecotoxicológicas e em outras concentrações, para ter um melhor entendimento dos padrões de resposta toxicológica deste organismo para com o óleo.

7. Referências Bibliográficas

AGUILERA, Francisco et al. Review on the effects of exposure to spilled oils on human health. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, v. 30, n. 4, p. 291-301, 2010.

ALFORD, J. Brian; PETERSON, Mark S.; GREEN, Christopher C. (Ed.). *Impacts of oil spill disasters on marine habitats and fisheries in North America*. CRC Press, 2014.

ALI, L. N.; MANTOURA, R. F.; ROWLAND, S. J. The dissolution and photodegradation of Kuwaiti crude oil in seawater. Part 2: a laboratory photodegradation apparatus and photodegradation kinetics of a model seawater soluble hydrocarbon (phenanthrene). *Marine environmental research*, v. 40, n. 4, p. 319-335, 1995.

APUBLICA, 2019. <https://apublica.org/2019/12/o-destino-incerto-do-oleo-que-atinge-o-litoral-do-nordeste>. Acessado em 2023/01/20.

AURAND, D. V.; COELHO, G. M. Proceedings of the fourth meeting of the chemical response to oil spills: ecological effects research forum. In: Report No. 96-01. Ecosystem Management and Associates Purcellville, VA, 1996.

BAAN, Robert et al. A review of human carcinogens—part F: chemical agents and related occupations. *The lancet oncology*, v. 10, n. 12, p. 1143-1144, 2009.

BARBOSA, CCA et al. Estruturação de Base Cartográfica para Mapeamento de Sensibilidade Ambiental a derrames de óleo ao longo do litoral Pernambucano. III Simpósio Brasileiro de Ciências Geodésicas e Tecnologias da Geoinformação Recife-PE, p. 27-30.

BEYER, Jonny et al. Environmental effects of the Deepwater Horizon oil spill: a review. *Marine pollution bulletin*, v. 110, n. 1, p. 28-51, 2016.

BRUM, H. D.; CAMPOS-SILVA, J. V.; OLIVEIRA, E. G. Brazil oil spill response: Government inaction. *Science*, v. 367, n. 6474, p. 155-156, 2020.

CARREGOSA, Jhonattas C. et al. Multiple reaction monitoring tool applied in the geochemical investigativo of a mysterious oil spill in northeast Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 93, 2021.

CEN. European Committee for Standardisation CEN/TR 15522–2:2012: Oil Spill Identification. Waterborne Petroleum and Petroleum Products. Part 2: Analytical Methodology and Interpretation of Results Based on GC-FID and GC-MS Low Resolution Analyses. CEN, Brussels., 2012.

CHANG, Ta-Yuan et al. Exposure to volatile organic compounds and kidney dysfunction in thin film transistor liquid crystal display (TFT-LCD) workers. *Journal of hazardous materials*, v. 178, n. 1-3, p. 934-940, 2010.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB); Norma técnica L5.021, Água do mar – teste de toxicidade aguda com *Artemia*: método de ensaio, São Paulo, 1991.

- CSEH, Larry et al. Draft Toxicological Profile for Vanadium. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2009.
- DAHLMANN, Gerhard; KIENHUIS, Paul. Oil spill sampling and the Bonn-oil spill identification network: a common method for oil spill identification. *Oil Pollution in the North Sea*, p. 237-254, 2015.
- DE FIGUEREDO, Livia Pitombeira et al. Development of a short-term chronic toxicity test with a tropical mysid. *Marine Pollution Bulletin*, v. 106, n. 1-2, p. 104-108, 2016.
- DE OLIVEIRA, Olívia MC et al. Environmental disaster in the northeast coast of Brazil: Forensic geochemistry in the identification of the source of the oily material. *Marine Pollution Bulletin*, v. 160, p. 111597, 2020.
- DE OLIVEIRA SOARES, Marcelo et al. Oil spill in South Atlantic (Brazil): Environmental and governmental disaster. *Marine Policy*, v. 115, p. 103879, 2020b.
- DISNER, Geonildo Rodrigo; TORRES, Mariana. The environmental impacts of 2019 oil spill on the Brazilian coast: Overview. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 7, n. 15, p. 241-256, 2020.
- DE AQUINO MARTINS, Patrick Thomaz; RIEDEL, Paulina Setti; MILANELLI, João Carlos Carvalho. Carta de sensibilidade ambiental ao óleo: origem, evolução e tendências. *Ciência e Natura*, v. 35, n. 2, p. 163-175, 2013.
- DE SANTANA, Debora Cristina Nascimento et al. Levels of hydrocarbons and toxicity of water-soluble fractions of maritime fuels on neotropical invertebrates. *Ecotoxicology*, v. 30, n. 10, p. 2109-2118, 2021.
- DOMINGUES, D.F. & BERTOLETTI E. Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos. In.: ZAGATTO, P.A. & BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática*. p.154-177, 2008.
- ESCOBAR, Herton. Mystery oil spill threatens marine sanctuary in Brazil. 2019.
- FERNANDES, Gabrielle M. et al. Levels, source appointment, and ecological risk of petroleum hydrocarbons in tropical coastal ecosystems (northeast Brazil): Baseline for future monitoring programmes of an oil spill area. **Environmental Pollution**, v. 296, p. 118709, 2022.
- FINGAS, Merv. Oil and petroleum evaporation. *Handbook of oil spill science and technology*, p. 205-223, 2014.

GARROTT, Robert A.; EBERHARDT, L. Lee; BURN, Douglas M. Mortality of sea otters in Prince William Sound following the Exxon Valdez oil spill. *Marine Mammal Science*, v. 9, n. 4, p. 343-359, 1993.

GILLIS, Bruce et al. Identification of human cell responses to benzene and benzene metabolites. *Genomics*, v. 90, n. 3, p. 324-333, 2007.

GUO, L. G. et al. Evaluation on biodegradability of hydrocarbon biomarkers in two crude oils under laboratory conditions. *Huan Jing ke Xue= Huanjing Kexue*, v. 31, n. 8, p. 1897-1903, 2010.

GUZMÁN, Héctor M.; JACKSON, Jeremy BC; WEIL, Ernesto. Short-term ecological consequences of a major oil spill on Panamanian subtidal reef corals. *Coral reefs*, v. 10, n. 1, p. 1-12, 1991.

HA, Mina et al. Children's mental health in the area affected by the Hebei Spirit oil spill accident. *Environmental health and toxicology*, v. 28, 2013.

HAMMER, Øyvind et al. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, v. 4, n. 1, p. 9, 2001.

HANSEN, Bjørn Henrik et al. Acute exposure of water soluble fractions of marine diesel on Arctic *Calanus glacialis* and boreal *Calanus finmarchicus*: Effects on survival and biomarker response. *Science of the total environment*, v. 449, p. 276-284, 2013.

HUGHES, Terry P. et al. Coral reefs in the Anthropocene. *Nature*, v. 546, n. 7656, p. 82-90, 2017.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Localidades afetadas.

http://www.ibama.gov.br/phocadownload/emergenciasambientais/2019/manchasdeoleo/2019-11-24_LOCALIDADES_AFETADAS.pdf (Acessado em 19/01/2023).

JACKSON, Jeremy BC et al. Ecological effects of a major oil spill on Panamanian coastal marine communities. *Science*, v. 243, n. 4887, p. 37-44, 1989.

LEACH, W. E. Entomostraca, *Dictionnaire des Science Naturelles*, vol. 14. Paris, Levrault and Schoell, p. 524, 1819.

LOURENÇO, Rafael André et al. Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): Trying to find answers and filling data gaps. **Marine Pollution Bulletin**, v. 156, p. 111219, 2020.

LOYA, Y.; RINKEVICH, B. Effects of oil pollution on coral reef communities. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, v. 3, n. 16, p. 180, 1980.

MAGRIS, Rafael Almeida; GIARRIZZO, Tommaso. Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. *Marine pollution bulletin*, v. 153, p. 110961, 2020.

Marinha do Brasil. Diretoria de Hidrografia e Navegação. <https://www.marinha.mil.br/dhn/?q=pt-br/node/35>. Acessado em 21/01/2023.

Ministério da Saúde. Portaria no 2.952, de 14 de dezembro de 2011. Regulamenta, no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), o Decreto no 7.616, de 17 de novembro de 2011, que dispõe sobre a declaração de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) e institui a Força Nacional do Sistema Único de Saúde (FN-SUS). *Diário Oficial da União* 2011; 15 dez.

MIRANDA, RICARDO J. et al. Oil Spill Disaster in Southwest Atlantic Coast: an Evaluation of Short-Term Effects on Coral Reef Benthic Assemblages. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 94, 2022.

MOHAMMED, Azad. Toxicity of water-soluble fractions of four fuels for *Metamysidopsis insularis*, an indigenous tropical mysid species. *Environmental monitoring and Assessment*, v. 104, n. 1, p. 37-44, 2005.

NELSON, Robert K. et al. Applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC× GC) in studying the source, transport, and fate of petroleum hydrocarbons in the environment. In: *Standard handbook oil spill environmental forensics*. Academic Press, 2016. p. 399-448.

PALINKAS, Lawrence A. et al. Community patterns of psychiatric disorders after the Exxon Valdez oil spill. *The American journal of psychiatry*, 1993.

PAIXÃO, Joana F. et al. Integrated assessment of mangrove sediments in the Camamu Bay (Bahia, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, n. 3, p. 403-415, 2011.

PENA, Paulo Gilvane Lopes et al. The crude oil spill on the Brazilian coast in 2019: the question of public health emergency. ***Cadernos de Saúde Pública***, v. 36, p. e00231019, 2020.

PENA, Paulo Gilvane Lopes; GOMEZ, Carlos Minayo. Health of subsistence fishermen and challenges for Occupational Health Surveillance. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 19, p. 4689-4698, 2014.

PETERSON, Charles H. et al. Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill. *Science*, v. 302, n. 5653, p. 2082-2086, 2003.

PIATT, John F.; FORD, R. Glenn. How many seabirds were killed by the Exxon Valdez oil spill?. In: American Fisheries Society Symposium. 1996. p. 712-719.

Polícia Federal, 2021. <https://g1.globo.com/jornal-nacional/noticia/2021/12/02/pf-conclui-que-navio-grego-foi-responsavel-por-derramar-toneladas-de-oleo-no-litoral-brasileiro.ghtml>.

Acessado em: 2023/01/20

RAND, G.L. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, environment fate and risk assessment. Second Edition. Taylor & Francis, Washington, DC. p. 1125, 1995.

RAYBURN, James R. et al. Characterization of grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) embryo toxicity tests using the water soluble fraction of number 2 fuel oil. Marine pollution bulletin, v. 32, n. 12, p. 860-866, 1996.

REDDY, C. M., NELSON, R. K., HANKE, U. M., CUI, X., SUMMONS, R. E., VALENTINE, D. L., ... & RADOVIĆ, J. R. Synergy of Analytical Approaches Enables a Robust Assessment of the Brazil Mystery Oil Spill. Energy & Fuels. 2022.

<https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.2c00656>

RÊGO, Rita Franco et al. Vigilância em saúde do trabalhador da pesca artesanal na Baía de Todos os Santos: da invisibilidade à proposição de políticas públicas para o Sistema Único de Saúde (SUS). Revista Brasileira de Saúde Ocupacional, v. 43, 2018.

REYES, Claudia Y. et al. Weathering of petroleum biomarkers: review in tropical marine environment impacts. Open Access Library Journal, v. 1, n. 9, p. 1-13, 2014.

ROMERO, A. F.; OLIVEIRA, M.; ABESSA, D. M. S. A simple Bird Sensitivity to Oil Index as a management tool in coastal and marine areas subject to oil spills when few biological information is available. Marine pollution bulletin, v. 128, p. 460-465, 2018.

SAVITZ, David A.; ANDREWS, Kurtis W. Review of epidemiologic evidence on benzene and lymphatic and hematopoietic cancers. American journal of industrial medicine, v. 31, n. 3, p. 287-295, 1997.

Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden, D.M., Environmental Organic Chemistry, third ed. Wiley-Interscience, New Jersey, USA, p. 1026, 2017.

SINGER, M. M. et al. Standardization of the preparation and quantitation of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing. Marine Pollution Bulletin, v. 40, n. 11, p. 1007-1016, 2000.

SOARES, M. de O. et al. Brazil oil spill response: Time for coordination. Science, v. 367, n. 6474, p. 155-155, 2020a.

SOARES, Marcelo Oliveira et al. The most extensive oil spill registered in tropical oceans (Brazil): the balance sheet of a disaster. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 13, p. 19869-19877, 2022.

SORGELOOS, P.G.; PERSOONE, M.; BAEZA-MESA, E.; BRUGGEMAN, E.. The use of *Artêmia* cysts in aquacultues: the concept "hatching efficiency" and description of a new method for cyst processing. P. 715-721. In: Proc. 9th Annual Meeting World Mariculture Society. Avault J.W. Jr (Ed.) Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA. 807 p., 1978.

STRØM-KRISTIANSEN, Tove et al. Weathering and dispersion of naphthenic, asphaltenic, and waxy crude oils. In: International Oil Spill Conference. American Petroleum Institute, 1997. p. 631-636.

STOGIANNIDIS, Efstathios; LAANE, Remi. Source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons by using their molecular indices: an overview of possibilities. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, p. 49-133, 2015.

VEIGA, L. F. & VITAL, N. Testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia* sp. In: NASCIMENTO, I. A; SOUSA, E. C. P. M.; NIPPER, M. (eds.), *Métodos em Ecotoxicologia Marinha. Aplicações no Brasil*. Ed. Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo, p. 111-112, 2002.

VERSLYCKE, Tim A. et al. Mysid crustaceans as potential test organisms for the evaluation of environmental endocrine disruption: a review. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 23, n. 5, p. 1219-1234, 2004.

WALKER, Tony R. et al. Environmental effects of marine transportation. In: *World seas: an environmental evaluation*. Academic Press, 2019. p. 505-530.

WHITE, Helen K. et al. Impact of the Deepwater Horizon oil spill on a deep-water coral community in the Gulf of Mexico. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 50, p. 20303-20308, 2012.

ZACHARIAS, Daniel Constantino; GAMA, Carine Malagolini; FORNARO, Adalgiza. Mysterious oil spill on Brazilian coast: Analysis and estimates. *Marine Pollution Bulletin*, v. 165, p. 112125, 2021a.

ZACHARIAS, Daniel Constantino et al. Mysterious oil spill on the Brazilian coast–part 2: a probabilistic approach to fill gaps of uncertainties. *Marine pollution bulletin*, v. 173, p. 113085, 2021b.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**Discente:** MURILO VIEIRA GUIMARÃES**Título:** "Avaliação ecotoxicológica do óleo de derramamentos ambientais no nordeste brasileiro em 2019 expondo *Artemia sp*"**Orientador:** Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa**Curso/Habilitação:** Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa	APROVADO
Dra. Ana Carolina Feitosa Cruz	Aprovado

PARECER:

O aluno mostrou domínio sobre o assunto, apresentou de forma clara e trouxe um trabalho escrito que atingiu os objetivos propostos.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que o discente **Murilo Vieira Guimarães** obteve o seguinte conceito:



APROVADO



REPROVADO

São Vicente, 27 de janeiro de 2023.


Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa
Dra. Ana Carolina Feitosa Cruz