

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 10/02/2024.



Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Câmpus de Araraquara
Instituto de Química



Lucy Elaine Suganara

Impacto da poluição ambiental em manguezal brasileiro, bioacumulação de HPAs em *Spartina alterniflora*

Tese de doutorado apresentada ao
Instituto de Química, Universidade Estadual
Paulista como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutora em Química

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro

Coorientadora: Dra. Mary Rosa Rodrigues de Marchi

Araraquara

2022

S947i Sugauara, Lucy Elaine
Impacto da poluição ambiental em manguezal brasileiro, bioacumulação de
HPAs em *Spartina alterniflora* / Lucy Elaine Sugauara. -- Araraquara, 2022
252 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de
Química, Araraquara
Orientador: Clovis Augusto Ribeiro
Coorientadora: Mary Rosa Rodrigues de Marchi

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2. Sedimentos marinhos. 3.
Planejamento experimental. 4. Toxicologia ambiental. 5. Plantas do manguezal.
I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Impacto da poluição ambiental em manguezal brasileiro, bioacumulação de HPAs em *Spartina Alterniflora*"

AUTORA: LUCY ELAINE SUGAUARA

ORIENTADOR: CLOVIS AUGUSTO RIBEIRO

COORIENTADORA: MARY ROSA RODRIGUES DE MARCHI

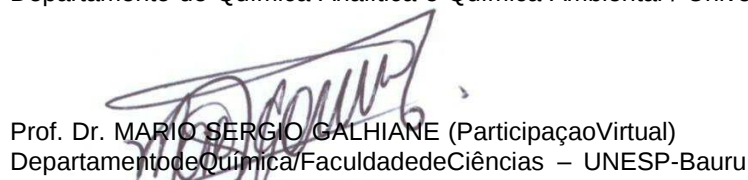
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



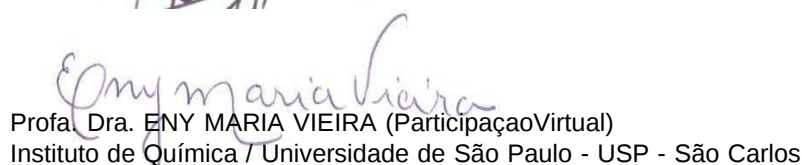
Profa. Dra. MARY ROSA RODRIGUES DE MARCHI (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química UNESP-Araraquara



Prof. Dr. FLAVIO SOARES SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica e Química Ambiental / Universidade Federal de Itajubá - UNIFEI - Itajubá



Prof. Dr. MARIO SERGIO GALHIANE (Participação Virtual)
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - UNESP-Bauru



Profa. Dra. ENY MARIA VIEIRA (Participação Virtual)
Instituto de Química / Universidade de São Paulo - USP - São Carlos



Profa. Dra. MARIA LUCIA RIBEIRO (Participação Virtual)
Departamento de Desenvolvimento Territorial e Meio Ambiente / Universidade de Araraquara - UNIARA - Araraquara

Araraquara, 10 de fevereiro de 2022.

DADOS CURRICULARES

Lucy Elaine Sugauara

1- DADOS PESSOAIS:

Nascimento: 26 de junho de 1979

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: São Paulo/SP

Filiação: Walter Sugauara

Inês Takabayashi

Endereço:

Rua Comendador Pedro Morganti, 919

Bairro São José

Araraquara/SP

CEP: 14.801-395

email: lucy_sugauara@yahoo.com.br

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Departamento de Química Analítica

Rua Professor Francisco Degni, 55

Bairro Jardim Quitandinha

Araraquara/SP

CEP:14800-060

Nome em citações bibliográficas:

SUGAUARA, L. E.;SUGAUARA, LUCY ELAINE

2- FORMAÇÃO ACADEMICA

2004 – 2012 Graduação: Licenciatura em Química

- Grande área: Química
- Instituição: Instituto de Química - UNESP
- Orientador: Mary Rosa Rodrigues de Marchi

2011 – 2014 Mestrado em Química

- Grande área: Química Analítica
- Subárea: Química Ambiental
- Instituição: Instituto de Química – UNESP
- Orientador: Mary Rosa Rodrigues de Marchi
- Título: Influência da fuligem de cana-de-açúcar na presença de HPA em hortaliças de consumo humano.

3- EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL E DIDÁTICA

Estágio Docência

- Disciplina: Espectroanalítica
- Curso: Bacharelado em Química
- Período: 2º Semestre/ 2014
- Instituição: Instituto de Química - UNESP
- Supervisor: Edilene Cristina

Docência em disciplina

- Disciplina: Análises Físico-Químicas e microbiológicas ambientais
- Curso: Técnico Controle Ambiental
- Período: 2º Semestre/ 2014
- carga horaria: 316 horas
- Instituição: UNIFEOB (Centro Universitário Octávio Bastos)

Atuou como docente mini-curso de cromatografia (45° Semana de Química)

- Carga Horaria: 4 horas
- Período: 2° semestre/ 2015

Analista em Projeto de Prestação de Serviço

- Atuação como analista no projeto de prestação de serviços “análise diária do teor de mercaptanas em gás natural”, com interveniência da FATEC (Fundação de Apoio a Ciência, Tecnologia e Educação).
- Período: 01/07/2011 até 2° semestre de 2015
- Período: 01/10/2018 até 2° semestre de 2021

PRINCIPAL PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA NO PERÍODO

- Prado, G.F., Zanetta, D.M.T., Arbex, M.A., Braga, A.L., Pereira, L.A.A., de Marchi, M.R.R., de Melo Loureiro, A.P., Marcourakis, T., Sugauara, L.E., Gattás, G.J.F. and Gonçalves, F.T., 2012. Burnt sugarcane harvesting: particulate matter exposure and the effects on lung function, oxidative stress, and urinary 1-hydroxypyrene. **Science of the total environment**, 437, pp.200-208.
- Pusceddu, F. H., Sugauara, L. E., de Marchi, M. R., Choueri, R. B., & Castro, Í. B. (2019). Estrogen levels in surface sediments from a multi-impacted Brazilian estuarine system. **Marine pollution bulletin**, 142, 576-580.
- BOUROTTE, Christine LM et al. Trace metals and PAHs in topsoils of the University campus in the megacity of São Paulo, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.

3- PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS E CURSOS:

Curso Bioensaios biologia molecular e celular

- Local: UNESP Rio Claro_SP
- Carga Horária: 30 horas

ISPAC: International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds

- Período: 8 a 12 de setembro de 2013
- Local: Corvallis-OR/ Estados Unidos
- Trabalho apresentado em poster: PAHs in leaves vegetables under the influence of sugarcane burning in Brazil

ISPAC: International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds

- Período: 13 a 17 de setembro de 2015
- Local: Bordeaux/ França
- Trabalho oral apresentado: PAHs occurrence in leafy vegetables highly consumed in Brazil

1º Workshop de inovação e empreendedorismo do IQ- UNESP

- Período: 29-30 de março de 2016
- Carga Horária: 12 horas

III Simpósio de Ecotoxicologia

- Período: 18 a 20 de abril de 2016
- Local: UNESP Rio Claro – SP
- Carga horária: 3 horas

41st international Symposium on capillary Chromatography

- Período: 18 a 20 de abril de 2016
- Local: Fort Worth- Texas/ Estados Unidos
- Trabalho apresentado em poster: PAHs in Mangrove region: method validation and application to samples from Southeast Brazil

ECOTOX– 12th SETAC Latin America Biennial Meeting

- Período: 7 a 10 setembro de 2017
- Local: Santos-São Paulo/Brasil
- Apresentação oral: Determinação de HPAs em *Spartina alterniflora*: aspectos analíticos e ambientais

*Dedico este trabalho à todos os amigos e colaboradores pelo esforço
e dedicação para comigo e com a ciência.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço á Deus e meus guias espirituais por tudo em minha vida.



Agradeço à minha família de sangue e de coração, pelas broncas nas horas de desânimo, pelo apoio nas horas de fraqueza e pelo "colo" nas horas de desespero.



Agradeço imensamente a Professora Mary por todo apoio, paciência e carinho, por nunca duvidar da minha capacidade.



Agradeço aos "médicos" do corpo, mente e espírito por me acompanharem nesta caminhada.



Agradeço as minhas amigas RITA e Flu por me acompanhar nesta etapa da vida.

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

Agradeço a FACTE pela pelo apoio financeiro indispensáveis para a realização deste trabalho.

“A amizade é o conforto indescritível de nos sentirmos seguros com uma pessoa, sem ser preciso pesar o que se pensa nem medir o que se diz.”

George Elliot

“Nós sempre precisamos de amigos. Gente que seja capaz de nos indicar direções, despertar o que temos de melhor e ajudar a retirar excessos que nos tornam pesados. É bom ter amigos. Eles são pontes que nos fazem chegar aos lugares mais distantes de nós mesmos.”

Padre Fábio de Mello

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são contaminantes historicamente conhecidos, apresentam propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas sendo amplamente distribuídos e encontrados como constituintes de misturas complexas em todos os compartimentos ambientais. São considerados, dentre a classe de hidrocarbonetos, os mais tóxicos existentes, razão da grande importância dos estudos acerca desta classe de compostos. A região da Baixada Santista é historicamente conhecida por seus altos níveis de contaminantes ambientais, possuindo no seu entorno Cubatão com uma das regiões industriais mais densas, o porto de Santos com seu intenso tráfego de navios de carga, diversos locais de armazenamento de produtos derivados de petróleo e grandes áreas com crescimento populacional desordenado como o Dique da Gilda, a maior comunidade de palafita do Brasil. Este estudo teve como objetivo geral avaliar o comportamento da espécie *Spartina alterniflora*, quanto ao acúmulo de HPAs em estuário da zona litorânea do estado de São Paulo. Para isso, foram validados métodos de extração de HPAs para análise cromatográfica (GC-MS e/ou HPLC-FLU) de amostras de sedimento e de *Spartina alterniflora*, planta invasora conhecida por seu potencial biorremediador de contaminantes orgânicos e inorgânicos. Os métodos validados para análise de HPAs em sedimento e *Spartina alterniflora*, incluíram a extração por solvente em banho de ultrassom e análise por GC-MS, alcançando limites de quantificação de 15 a 20 ng g⁻¹. Houve correlação entre as concentrações encontradas na planta (parte aérea + raiz) e as concentrações encontradas no sedimento próximo a planta ($R^2=0,842$), indicando que esta espécie apresenta potencial de bioremediação para os HPAs. As concentrações de HPAs encontradas em *Spartina alterniflora* foram de 209±30 a 1581±133 ng g⁻¹ e em sedimento, a máxima concentração encontrada foi de 66.451 µg kg⁻¹, valor dez vezes inferior à maior concentração publicada pela CETESB em 2001 de 734.000 µg kg⁻¹ (para o mesmo ponto incluído neste trabalho). Esta observação pode ser atribuída a alterações no parque industrial de Cubatão (modificação das políticas públicas, mudança de processos, etc), ocorridas nas duas décadas entre os períodos de amostragem: 2000 e 2017. Todas as amostras de sedimento mostraram fitotoxicidade (*Lactuca sativa*) e para o teste em organismo (*Tiburella viscana*) mais de 60% das amostras indicou toxicidade significativa. No entanto, sendo a Baixada Santista uma região historicamente bastante impactada, a toxicidade encontrada não pode ser correlacionada apenas com os HPAs. Foram calculadas as razões de diagnóstico (ratios), de acordo com diversas referências da literatura, sendo possível inferir que fontes pirogênicas apresentam maior contribuição para os HPAs presentes na região estudada. Utilizando os PCA foi possível agrupar as amostras com o somatório das concentrações de todos os HPAs sendo o fenantreno, antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno e indeno(1,2,3-cd)pireno as respostas mais significativas para este agrupamento.

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are historically known contaminants. They have carcinogenic, mutagenic and teratogenic properties, being widely spread and found as constituents of complex *mixtures* in all environmental areas. In the class of hydrocarbons, they are considered the most toxic, that being the reason for the great importance of the studies about this class of compounds. The region of Baixada Santista is historically known for its high levels of environmental contaminants, having in its surroundings: Cubatão, home of one of the densest industrial regions; the port of Santos with its intense traffic of cargo ships; several storage silos housing derivatives of oil; and large areas with population growing chaotically such as Gilda's Dique, the largest stilt slum in Brazil. This study aimed to evaluate the behavior of the species *Spartina alterniflora*, focusing on the accumulation of PAHs in estuary areas in the coastal zone in Sao Paulo. In order to achieve this goal, methods of PAH extraction were validated for chromatographic analysis (GC/MS and/or HPLC/FLU) of sediment samples and *Spartina alterniflora*, an invasive plant known for its bioremediation potential of both organic and inorganic contaminants. The validated methods for PAHs analysis in sediment and *Spartina alterniflora* included solvent extraction in an ultrasound bath and GC-MS analysis, reaching quantification limits of 15 to 20 ng g⁻¹. A correlation between the concentrations found in the plant (shoot + root) and the concentrations found in the sediment near the plant ($R^2=0.842$) was identified, indicating that this species has potential for bioremediation for PAHs. The PAH concentrations found in *Spartina alterniflora* ranged from 209±30 to 1581±133 ng g⁻¹ and in sediment, maximum concentration of 66,451 µg kg⁻¹. Both concentrations are lower than the concentrations published in a 2001 CETESB study, which reported maximum of 734,000 µg kg⁻¹ for the same area included in this work. This observation can be attributed to changes in the industrial park of Cubatão (industries leaving the area, changes in processes, etc.), which occurred in the two decades between the sampling periods of 2000 and 2017. All sediment samples showed phytotoxicity (*Lactuca sativa*) and more than 60% of the organism (*Tiburella viscana*) test samples indicated significant toxicity. The Baixada Santista is a highly impacted region, however the toxicity found cannot be correlated with PAHs alone. The diagnostic ratios were calculated according to several references in the literature, making it possible to infer that pyrogenic sources present the greatest contribution to the PAHs detected source in the studied area. By using PCA, it was possible to group the samples with the sum of the concentrations of all PAHs, with phenanthrene, anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene and indene(1,2,3-cd)pyrene being the most significant responses for this grouping.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagens de acidentes ambientais causados pelo vazamento de petróleo. A) Paraná 2000: óleo cru nos rios Arroio Saldanha, Barigui e Iguaçu; B) Paraná: caranguejo coberto de petróleo C) Golfo do México: 2010 explosão da plataforma Deepwater Horizon; D) Louisiana, 2000: pássaro coberto de petróleo; E) Alagoas, 2019: mancha de óleo praia do Pontal do Peba; F) Cabo de Santo Agostinho, 2019: caranguejo coberto de óleo na praia.	29
Figura 2. Estimativa anual de novos casos de displasia no Brasil para o triênio 2020-2022 para cada 100 mil habitantes.	38
Figura 3. Mecanismo proposto para a ação mutagênica do benzo(a)pireno	40
Figura 4. Disfunções endócrinas: (a) resposta natural; (b) efeito agonista; (c) efeito antagonista.	41
Figura 5. Estrutura da região de Baía (Bay) e região similar de Baía (Baylike)	42
Figura 6. A) Floração de <i>Spartina alterniflora</i> ; B) Predominância da espécie em região alagada de mangue; C) Ocorrência mundial.	51
Figura 7. Localização da faixa do pré sal em azul mais escuro e divisão das Bacias de Campos e de Santos.	53
Figura 8. Incêndios que atingiram a região de São Vicente A) localização do bairro da Alemoa; B) localização dos terminais de armazenamento líquido que explodiram; C) foto do evento; D) fumaça vista da rodovia.	55
Figura 9. Localização do Dique da Gilda (A) organização do Dique da Gilda, localização do Caminho de São Sebastião em amarelo (B)	56
Figura 10. Caminho de São Sebastião: A) foto de parte do conjunto de construções irregulares de palafita; B) foto do evento; C) foto da degradação ambiental próximo à estas construções; D) fotos após o evento.	57
Figura 11. <i>Amphipodos Leptocheirus plumulosus</i> e <i>Tiburonella viscana</i>	66
Figura 12. Planejamento em estrela	68
Figura 13. Superfícies de respostas geradas por modelos quadráticos na otimização de duas variáveis: (A) máximo; (B) platô; (C) máximo; fora da região experimental; (D) mínimo e (E) superfície de sela.	69
Figura 14. Localização do ponto de coleta A) mapa de São Vicente com a localização do Instituto de Biociências Campus Litoral_UNESP em destaque e o ponto de coleta; B) Portinho ponto de coleta.	74
Figura 15. <i>Spartina alterniflora</i> limpeza e preparo, inteira (A); somente as raízes (B) e somente as folhas (C).	75

Figura 16. Região de estudo, área impactada em destaque vermelho e área não impactada (amostra branco) área em destaque roxo	76
Figura 17. Localização dos pontos de coleta das amostras provenientes de áreas não impactadas: A) destaque para o local de coleta; B) distância até o Instituto de Biociências	77
Figura 18. Pontos de amostragem CETESB influências nas regiões	78
Figura 19. Pontos de amostragem 2017.	80
Figura 20. Método de extração previamente otimizado para A) amostras de hortaliças; B) método aplicado as amostras de <i>Spartina alterniflora</i> ; C) sedimento superficial provenientes de mangue.	91
Figura 21. Método otimizado para extração de HPAs em <i>Spartina alterniflora</i> .	94
Figura 22. Fluxograma método otimizado e validado para extração de HPAs em amostras de sedimento.	98
Figura 23. Teste <i>Lactuca sativa</i> (A) controle, areia lavada (B) amostra de sedimento	101
Figura 24. Teste ecotoxicológico com <i>Tiburinella viscana</i>	102
Figura 25. Cromatograma (GC-MS CP 3800, Varian Saturno 2000), obtido da análise de solução padrão mista de concentração de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para cada HPA diluído em diferentes solventes: (A) solvente isooctano; (B) solvente n-hexano.	105
Figura 26. Cromatograma (GC-MS, Varian CP 3800 MS 2000) solução padrão dos HPAs, a $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e solução padrão deuterado a $2,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ modo scan, destaque para os compostos onde não houve total separação.	106
Figura 27. Cromatograma solução padrão $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (GC-MS QP 2020 Shimadzu método descrito Tabela 10. A) cromatograma da aquisição modo SCAN; B) BaA+CrD10+CrI; C) BbF+BkF e D) Ind+Dib	109
Figura 28. Estruturas das fases estacionárias das colunas ZB-5MS (1,4-bis(dimetilsiloxi)fenileno dimetil polissiloxano) e RTX-5MS (difetil dimetil polissiloxano).	110
Figura 29. Cromatograma obtido na análise em HPLC-FLU de solução mista de padrões de HPAs de concentrações $5,12$ a 256 ng mL^{-1} com destaque aos compostos de baixa resposta (setas amarelas e verdes).	112
Figura 30. Cromatogramas HPLC-FLU obtidos na análise da mistura de padrões de HPAs (concentração $0,8\sim40,0 \text{ ng mL}^{-1}$) com a utilização de diferentes intensidades de PMT (A) alta e (B) média	113

Figura 31. Cromatogramas HPLC-FLU referentes as análises de solução padrão de concentração 4,56 a 228 ng mL ⁻¹ com diferentes programações no detector em cinza (3 intervalos de comprimento de onda) e em azul (9 intervalos de comprimento de onda).	115
Figura 32. Teste de eficiência do método de extração de HPAs por ultrassom em amostras de sedimento e <i>Spartina alterniflora</i>	119
Figura 33. Comparativo entre os intervalos de confiança das recuperações do teste de diferentes temperaturas de acondicionamento para amostras de sedimento.	127
Figura 34. Comparativo entre as temperaturas de acondicionamento para amostras de <i>Spartina alterniflora</i>	128
Figura 35. Porcentagem de recuperação dos HPAs em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> e sedimento, extraídos com e sem o uso de vórtex.	130
Figura 36. Intervalo de confiança do teste da utilização de vórtex na extração de HPAs em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> .	131
Figura 37. Intervalo de confiança do teste de utilização de vórtex na extração de HPAs em amostras de sedimento.	132
Figura 38. Cromatogramas (HPLC-FLU) para <i>Spartina alterniflora</i> : amostra branco (A1) fortificada e extraída com n-hexano:acetona 1:1 (A2); Para sedimento: amostra branco (B1) e amostra fortificada extraídas com diclorometano:acetona 1:1 (B2)	139
Figura 39. Gráfico de superfície resposta da Σ de concentrações de HPA	145
Figura 40. Gráficos superfície de resposta do benzo(a)pireno.	147
Figura 41. Comparativo entre análises do extrato de <i>Spartina alterniflora</i> folhas e caule (preto) e de raiz (pink), aplicação do método validado, análise em GS-MS Shimadzu.	151
Figura 42. Gráfico de Pareto referente aos resultados das extrações de sedimento	154
Figura 43. Gráficos de Pareto para a soma normalizada e para os dados de recuperação do benzo(a)pireno	155
Figura 44. Fluxograma da extração de HPAs em amostras de sedimento de acordo com dados do planejamento experimental e com base nos resultados de recuperação da soma normalizada de todos os compostos e do benzo(a)pireno.	156
Figura 45. Superfície de resposta dos resultados de recuperação do BaP	157
Figura 46. Método validado para extração de HPAs em <i>Spartina alterniflora</i>	158

Figura 47. Fluxograma do segundo método de extração de HPAs em amostras de sedimento validado.	162
Figura 48. <i>Spartina alterniflora</i> A) maré baixa; B) maré alta.	165
Figura 49. Pontos de coleta da <i>Spartina alterniflora</i> : região de coleta de amostras impactadas destacada em preto e não impactadas destacada em vermelho (A) ; pontos de coleta da região impactada (B) ; região de coleta de amostras não impactadas (C) .	166
Figura 50. Gráficos de intervalo de confiança (IC) e média das análises de HPAs em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> folhas+caule e <i>Spartina alterniflora</i> raízes, com nível de confiabilidade de 0,05.	172
Figura 51. Diferentes tipos de plantas estudadas em mangue para exposição de HPAs (LI et al., 2014)	175
Figura 52. Ponto de coleta 9 (próxima USIMINAS) e ponto 6 no Rio Pedreira (margem da Ilha Barnabé).	183
Figura 53. Pontos de amostragem do atual trabalho Rio Perequê P7 sem ponto CETESB correspondente, Rio Casqueira P10 e Largo da Pompeba P11 com respectivos pontos CETESB C10 e C11.	185
Figura 54. Canal de Bertiooga, pontos de amostragem do atual trabalho P6 e P4 e respectivos pontos CETESB C6 e C7.	186
Figura 55. Pontos de amostragem do atual trabalho P12, P13 e P14 e respectivos pontos CETESB C12, C25 e C13.	187
Figura 56. Pontos amostragem do atual trabalho P15, P16 e P17 e respectivos pontos CETESB C14, C15 e C16, ponto de amostragens atuais P20, P21 e P22 e ponto CETESB correspondente C17, delimitação do município em vermelho.	188
Figura 57. Portinho, ponto de coleta das amostras 20, 21 e 22.	189
Figura 58. Pontos de coleta das amostras de Bertiooga, BM amostra de mangue e BN amostra de nascente mapa em A e foto em B.	190
Figura 59. Locais de amostragem, Ariri e Cananéia, amostras não impactadas.	191
Figura 60. Gráfico de correlação entre COT e concentração de HPAs.	196
Figura 61. Gráfico de coeficiente de correlação entre as concentrações de HPAs e os resultados da análise granulométrica das amostras (A) fração grossa > 63 µm e > 1000 µm; (B) fração fina > 25 µm e ≤ 25 µm	197
Figura 62. Resultados do ratio (Fen/Pir) e diagnósticos sugeridos para as amostras de sedimento.	199

Figura 63. Resultados do ratio (Flt/Pir) e diagnósticos sugeridos para as amostras de sedimento.	200
Figura 64. Resultados do ratio (BaA/Cri) e diagnósticos sugeridos para as amostras de sedimento.	201
Figura 65. Razões BbF/BkF em amostras de sedimento e prováveis fontes	202
Figura 66. Razões Ind/BghiP em amostras de sedimento e prováveis fontes	203
Figura 67. Razões de diagnóstico com a soma de 11 HPAs prioritários (L/H) em amostras de sedimento.	204
Figura 68. Razões de diagnóstico da somatória de HPAs, "pesados" de 4 a 6 (HW) e "leves" de 2 a 3 anéis aromáticos (LW).	205
Figura 69. Gráficos de correlação entre Σ HPAs; A) sedimento X <i>Spartina alterniflora</i> TOTAL; B) SA _{RAÍZES} X SA _{CAULE+FOLHAS} ; C) SA _{TOTAL} X SA _{RAÍZES} e SA _{TOTAL} X SA _{CAULE+FOLHAS}	209
Figura 70. Germinação das sementes de <i>Lactuca sativa</i> nos tratamentos controles e nas amostras de sedimentos.	211
Figura 71. Montagem do bioensaio utilizando <i>Tiburonella viscana</i> como organismo teste.	214
Figura 72. Distribuição espacial dos resultados qualitativos de toxicidade (para $p < 0,05$), Em vermelho as amostras que apresentaram maior toxicidade, em amarelo a amostra exibindo indício de toxicidade, em azul as amostras não tóxicas e em branco as amostras não testadas	220
Figura 73. (A) porcentagem explicada por cada PC; (B) Agrupamento das amostras de sedimento por PCA em função de cada HPA.	223
Figura 74. Mapa dos pontos agrupados de acordo com análise de PCA.	225
Figura 75. Influência das concentrações de HPAs na dispersão das amostras de sedimento.	226

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Estrutura dos 16 HPAs considerados prioritários pela <i>Environmental Protect Agency</i> (EPA) dos Estados Unidos e respectivas massas molar (g mol^{-1}), número CAS, ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$), solubilidade em água (mg mL^{-1} a 25°C), Log Kow, constante de Henry ($\text{Pa m}^3\text{mol}^{-1}$ à 20°C) classificação de carcinogenicidade pela International Agency of Research on Cancer (IARC):	32
Tabela 2. Concentrações de Σ HPA encontradas em sedimentos marinho e mangue em amostras provenientes de diferentes regiões.	45
Tabela 3. Relações de diagnóstico (RATIOS, eq.1, pg 19) para HPAs, encontradas na literatura	50
Tabela 4. Valores de Σ HPAs na Baixada Santista, informadas em estudos na literatura	58
Tabela 5. Algumas técnicas de extração e quantificação de HPAs em amostras ambientais.	59
Tabela 6. Sumário das etapas referentes a parte experimental, apresentando pergunta a ser respondida em cada item e estratégia adotada.	73
Tabela 7. Pontos de coletas, coordenadas e data de coleta.	79
Tabela 8. Detalhes das campanhas de amostragem.	81
Tabela 9. Concentrações dos HPAs nas soluções padrão inicial e soluções estoque preparadas	83
Tabela 10. Especificações do GC-MS VARIAN CP 3800 MS 2000 utilizado e dados do método de análise dos compostos.	84
Tabela 11. Especificações do GC/MS-QP 2020 SHIMADZU e do método otimizado.	85
Tabela 12. Concentrações (ng mL^{-1}) das soluções padrão inicial (adquirida) e da solução padrão estoque, utilizada no estudo com o sistema HPLC-FLU	86
Tabela 13. Condições cromatográficas (HPLC-FLU) otimizadas para determinação de HPAs.	87
Tabela 14. Concentração em ng g^{-1} dos HPAs após a fortificação das amostras com as soluções estoques.	89
Tabela 15. Fatores testados no planejamento completo e os níveis estabelecidos.	92
Tabela 16. Planejamento Experimental Completo 2k ($k=4$)	93
Tabela 17. Variáveis estabelecidas para a otimização de método de extração de HPAs das amostras de sedimento.	95
Tabela 18. Planejamento experimental fatorial fracionado para extração de HPAs em amostras de sedimento.	96
Tabela 19. Planejamento experimental do ponto central dos três fatores estudados.	97

Tabela 20. Parâmetros obtidos do método otimizado e validado no equipamento Varian GC MS CP 3800, valores em ng mL ⁻¹ .	108
Tabela 21. Valores obtidos no método de separação e quantificação por GC MS SHIMADZU, concentrações em ng mL ⁻¹ .	111
Tabela 22. Comprimentos de onda do método inicial e do método final com PMT fixo em médio.	114
Tabela 23. Parâmetros das curvas analíticas obtidas para HPAs, determinados por HPLC-FLU, concentrações em ng mL ⁻¹	116
Tabela 24. Valores de concentrações nas matrizes estudadas, após a fortificação e no extrato obtido após o processo explicitado na figura 32 (pag 118).	118
Tabela 25. Recuperação e CV, em porcentagem, dos HPAs em amostras fortificadas de sedimento e <i>Spartina alterniflora</i> . Análise por HPLC-FLU	120
Tabela 26. Recuperação e CV (n= 2), em porcentagem, na avaliação da influência da estratégia de secagem das amostras	122
Tabela 27. Concentrações nominais para as amostras fortificadas e nos extratos obtidos, de acordo com a Figura 32 (pag 118)	124
Tabela 28. Recuperações em porcentagem no teste de acondicionamento das amostras em diferentes temperaturas. n=2	125
Tabela 29. Variação de temperatura do banho de ultrassom conforme o tempo de uso.	133
Tabela 30. Recuperações das extrações (n = 3, banho de ultrassom, 10 minutos) de HPAs em sedimento efetuadas com aquecimento monitorado.	134
Tabela 31. Resultados do estudo da extração por DMFS: resposta modificada (recuperação normalizada) e coeficientes de variação. São apresentados os valores para cada HPA e para a somatória	137
Tabela 32. Resultados de recuperação obtidos, valores em porcentagem de recuperação (REC) e coeficientes de variação (CV), utilizando diferentes misturas de solventes no processo de extração por ultrassom e analisados por HPLC-FLU.	141
Tabela 33. Fatores estudados no planejamento completo e os níveis estabelecidos.	143
Tabela 34. Planejamento fatorial completo 2k para extração de 16 HPAs prioritários em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> e porcentagem de recuperação de cada HPA.	144
Tabela 35. Comparativo das melhores condições segundo resultados para Σ HPA, benzo(a)pireno e as condições do método validado.	148
Tabela 36. Valores de limites de detecção e quantificação e faixa de trabalho do método de extração de HPAs em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> validado, os valores são expressos em ng g ⁻¹	149
Tabela 37. Variáveis estabelecidas para a otimização de método de extração de HPAs das amostras de sedimento.	152

Tabela 38. Descrição do planejamento fatorial fracionado 2k-2 , os resultados de recuperação para cada HPAs estudado e o valor da soma normalizado.	153
Tabela 39. Planejamento experimental do ponto central dos três fatores estudados	155
Tabela 40. Valores de limites de detecção e quantificação e faixa de trabalho do método de extração de HPAs validado em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> , os valores são expressos em ng g ⁻¹	160
Tabela 41. Valores de limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método validado para amostras de sedimento, valores expressos em ng g ⁻¹ .	161
Tabela 42. Dados comparativos entre os métodos de extração validados para amostras de sedimento, valores em ng g ⁻¹	164
Tabela 43. Concentrações de HPAs (ng g ⁻¹) encontradas em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> (SA) (n=3).	167
Tabela 44. Valores reportados por Hong et. al.(2015) de incorporação de HPAs em <i>Spartina alterniflora</i> após 70 dias de exposição	170
Tabela 45. Concentrações médias encontradas nas folhas e raízes de <i>Spartina alterniflora</i> em ng g ⁻¹ p.s.e respectivos desvios padrões.	171
Tabela 46. Concentrações de HPAs (ng g ⁻¹) encontradas nas amostras de sedimento coletadas no pontos de amostragem indicados na Figura 19 (pag 80) n=3	178
Tabela 47. Concentração dos HPAs em cada amostra analisada e limites estabelecidos pelo CONAMA 454/2012 em (µg kg ⁻¹) e concentrações encontradas nas amostras coletadas, em vermelho os valores acima do determinado para nível 1	193
Tabela 48. Concentrações de HPAs (µg kg ⁻¹), análises de carbono orgânico total do sedimento fração final (µg kg ⁻¹), normalização dos resultados.	195
Tabela 49. Valores de concentrações (Σ HPA ng g ⁻¹) para amostras de sedimento e <i>Spartina alterniflora</i> coletadas nos mesmos pontos (Figura 19, pag 80)	206
Tabela 50. Resultados do teste de germinação em <i>Lactuca sativa</i> utilizando sedimento de mangue.	212
Tabela 51. Parâmetros monitorados durante o experimento.	216
Tabela 52. Resultado do experimento com <i>Tiburonella viscana</i> .	219

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

Ace	Acenafteno
Acef	Acenaftileno
ACN	Acetonitrila
ASE	Accelerated Solvent Extraction
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
Ant	Antraceno
BaA	Benzo(a)antraceno
BaP	Benzo(a)pireno
BbF	Benzo(b)fluoranteno
BghiP	Benzo(ghi)pireno
BkF	Benzo(k)fluoranteno
CAS	Chemical Abstracts Services
CNA	Confederação Nacional dos Agricultores
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Conc	Concentração
Cri	Criseno
DahA	Dibenzo(a,h)antraceno
DCM	Diclorometano
DOE	Design of Experimental
EEA	European Enviroment Agency
EFSA	European Food Safety Authority
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária
EPA	Environmental Protrection Agency
Fen	Fenantreno
Flu	Fluoranteno

FLU	Fluorescência
Flt	Fluoranteno
GC-MS	Gas Chromatography - Mass Spectrometry
hER	Human Estrogen Receptor
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
HPLC	High Performance Liquid Chromatograph
IARC	International Agency for Research on Cancer
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Ind	Indeno(1,2,3-cd)pireno
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IPCS	International Programme on Chemical Safety
Koa	Coeficiente Octanol-Air
Kow	Coeficiente Octanol-Water
LC	Liquid chromatograph
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
ME	Método de Extração
MeOH	Metanol
MM	Massa molar
MOE	Margin of Exposure
MP	Material Particulado
MVA	Multivariate Analysis
Naf	Naftaleno
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCC	Planejamento de Composto Central

P.E.	Ponto de Ebulição
P.F.	Ponto de Fusão
PFF	Planejamento Fatorial Fracionado
Pi	Pireno
Rec	Recuperação
Rn	Resposta normalizada
RSM	Response Surface Methodology
SOXWAVE	Soxhlet+ultrassom
SPE	Solid phase extraction
UE	União Européia
UM	Unidade de medida

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius
CV	Coeficiente de Variação
D	Conveniência Global (Global Desirability)
d	Conveniência (Desirability)
g	Grama
kg	Quilograma
L	Litro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
ng	Nanograma
rpm	Rotações por minuto
tr	Tempo de retenção
Σ	Somatório
λ	Lambda
μg	Micrograma
μL	Microlitro

SUMÁRIO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
1.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	31
1.1.1. HPAs e Saúde Humana	36
1.1.1.1. Carcinogenicidade	39
1.1.1.2. Alteração endócrina	40
1.1.2. HPAs e Meio Ambiente	42
1.1.3. Ocorrência de HPAs no Mangue	43
1.1.4. HPAs Ratios	46
1.1.4.1. Diferenciação entre Algumas Fontes Petrogênicas e Pirogênicas	47
1.1.4.2. Diferenciação entre Algumas Fontes Pirogênicas	48
1.2. <i>Spartina alterniflora</i>	50
1.3. Histórico da Baixada Santista com Relação à Exposição aos HPAs	52
1.3.1. Ano de 2010: Exploração em Escala Comercial do Pré-sal	52
1.3.2. Ano de 2015: Incêndio ALEMOA	54
1.3.3. Ano de 2017: Incêndio na Comunidade de Palafitas Denominado CAMINHO DE SÃO SEBASTIÃO	56
1.4. Extração e Análise dos HPAS	58
1.5. Testes biológicos	62
1.5.1. Teste de Fitotoxicidade	63
1.5.2. Testes em Organismos	64
1.6. Planejamento Experimental	66
1.6.1. A superfície de resposta (RSM: Response Surface Methodology)	67
1.7. Validação Analítica	69
1.7.1. Seletividade	70
1.7.2. Linearidade	70
1.7.3. Precisão	70
1.7.4. Exatidão	71
1.7.5. Limite de detecção	71
1.7.6. Limite de quantificação	71
1.7.7. Robustez	71

2. OBJETIVOS	72
3. PARTE EXPERIMENTAL	73
3.1. Amostragem	74
3.1.1. Coleta das Amostras para Otimização do Método de Extração	74
3.1.2. Plano de Amostragem	75
3.1.3. Pontos de Coleta: Área Não Impactada	76
3.1.4. Pontos de Coleta: Área impactada	77
3.1.5. Coleta de Amostras	81
3.2. Métodos Cromatográficos de Análise	82
3.2.1. GC-MS CP3800 VARIAN SATURN 2000	82
3.2.2. GC MS-QP 2020 SHIMADZU	85
3.2.3. HPLC- FLU VARIAN LC 920	86
3.3. Extração	88
3.3.1. Preparo das Amostras Fortificadas	88
3.3.2. Otimização do Processo de Extração	90
3.4. <i>Spartina alterniflora</i>	92
3.4.1. OTIMIZAÇÃO: Planejamento Experimental	92
3.4.2. VALIDAÇÃO: Método de Extração de HPAs em <i>Spartina alterniflora</i> (GC MS)	93
3.5. Sedimento	95
3.5.1. Extração por ultrassom com monitoramento de temperatura	95
3.5.2. Planejamento Experimental Fracionado (2^{k-2})(GC-MS Varian)	95
3.5.3. Planejamento Experimental do Ponto Central (GC-MS Shimazu)	97
3.5.4. Validação do Método de Extração (GC-MS Shimadzu)	97
3.6. COMPOSIÇÃO: TAMANHO DAS PARTÍCULAS	98
3.6.1. Granulometria	98
3.6.2. Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS)	99
3.7. CARBONO ORGÂNICO TOTAL	99
3.8. TESTES ECOTOXICOLÓGICOS	99
3.8.1. Teste com <i>Lactuca sativa</i>	100
3.8.2. Teste com <i>Tiburonella viscana</i>	101

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	104
4.1. MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISE	104
4.1.1. GC-MS/MS CP3800 Varian Saturn 2000	104
4.1.2. GC MS/MS-QP 2020 SHIMADZU	108
4.1.3. HPLC- FLU Varian LC 920	111
4.2. MÉTODO DE EXTRAÇÃO	117
4.2.1. Testes Preliminares	117
4.2.1.1. TESTE da eficiência extração de HPAs em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> e sedimento pelo método de ultrassom	117
4.2.1.2. TESTE ETAPA DE SECAGEM influência da utilização de fluxo de nitrogênio na etapa de secagem, em amostras de <i>Spartina alterniflora</i> (HPLC-FLU)	121
4.2.1.3. TESTE da influência da temperatura de acondicionamento na etapa de fortificação (<i>Spartina anterniflora</i> e sedimento)	123
4.2.1.4. TESTE influência do uso de vórtex durante a extração de HPAs em amostras de sedimento e <i>Spartina alterniflora</i> (GC-MS Varian)	129
4.2.1.5. Extração de HPAs em amostras de sedimento com aquecimento	133
4.2.2. Extração de HPAs em amostras de sedimento por dispersão em fase sólida (GC-MS Varian)	135
4.2.2.1. Escolha do solvente de extração para amostras de <i>Spartina alterniflora</i> e sedimento, extração por ultrassom (HPLC-FLU)	138
4.3. OTIMIZAÇÃO DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	142
4.3.1. Otimização dos Método de Extração de HPAs em <i>Spartina alterniflora</i>	142
4.3.1.1. Planejamento Completo (GC-MS Varian)	142
4.3.1.2. Teste de aplicação do método de extração em amostras reais de <i>Spartina alterniflora</i>	149
4.3.2. Otimização do Método de Extração de HPAs em sedimento	152
4.3.2.1. Planejamento Experimental Fracionado (2^{k-2})(GC-MS Varian)	152
4.3.2.2. Planejamento Experimental do Ponto Central (GC-MS Shimazu)	154
4.4. VALIDAÇÃO	158
4.4.1. Validação do método de extração de <i>Spartina alterniflora</i> (GC-MS Shimadzu)	158
4.4.2. Validação e aplicação do método de extração (GC-MS Shimadzu)	160

4.4.3. Validação do método de extração massa de 2,000 g (GC-MS Shimadzu)	162
4.5. Aplicação do Método de Extração de HPAs em Amostras de <i>Spartina alterniflora</i>	165
4.5.1. Concentração de HPAs nas folhas de <i>Spartina alterniflora</i>	173
4.5.2. Concentração de HPAs em outras espécies de plantas de regiões de mangue	174
4.6. Aplicação do Método de Extração em Amostras de Sedimento	177
4.6.1. Comparativo das Concentração de Σ HPA16 do atual trabalho Valores da CETESB 2001 e Concentrações em outras regiões	181
4.6.2. Concentrações dos Pontos Controle	190
4.6.3. Concentração de de HPAs em sedimentos e Resolução CONAMA	192
4.6.4. Relação entre as Concentrações de HPAs e Carbono Orgânico Total	194
4.6.5. Relação entre Concentrações de HPAs e Análises Granulométrica	198
4.6.6. Ratios	198
4.6.7. Comparação entre as concentrações de HPAs encontras em sedimento e em <i>Spartina alterniflora</i> coletados no mesmo ponto	206
4.6.8. Testes Biológicos	210
4.6.8.1. <i>Lactuca sativa</i>	210
4.6.8.2. <i>Tiburonella viscana</i>	213
4.7. Análise das Componentes Principais	222
5. CONCLUSÕES	228
6. REFERÊNCIAS	229
7. ANEXOS	240
8. APÊNDICES	248

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O meio ambiente consiste em uma complexa rede interligada e harmoniosa, incluindo a biota e o meio abiótico, formada no decorrer de milhões de anos. Esta harmonia findou-se com o aumento das ações antrópicas ao longo do desenvolvimento humano.

A primeira revolução industrial com início na Inglaterra na segunda metade do século XVIII se espalhou pelo mundo acelerando o processo de degradação ambiental com o intuito do desenvolvimento de novas tecnologias e a produção em larga escala, o que acarretou a necessidade da busca por novos combustíveis. Nesse contexto, entre os séculos XVIII e XIX, o carvão mineral se tornou indispensável para o funcionamento dos primeiros motores movidos a vapor (NEVES & SOUSA, 2021).

Nos primeiros anos do século XX, a popularização dos automóveis ampliou ainda mais a demanda internacional por combustíveis de alto desempenho. Dessa forma, os combustíveis fósseis (então somente empregados na obtenção do querosene) passaram a ser essenciais para obtenção da gasolina. Algumas décadas mais tarde, essa mesma tendência transformou o diesel em combustível de grande utilização aumentando e consolidando a nossa dependência em relação ao petróleo e conseqüentemente, aumentando as emissões de contaminantes decorrente deste consumo (SOUSA, 2021).

O petróleo é uma mistura complexa de compostos orgânicos nos estados gasoso, líquido e sólido, sendo composto em 75% de hidrocarbonetos de 4 a 26 átomos de carbonos, dividindo-se em alcanos, alcenos, alcinos, cicloalcanos e aromáticos. Uma vez inseridos no ambiente aquático, os óleos e seus derivados tendem a ser adsorvidos no material particulado e estes, são depositados nos sedimentos, e persistem por muitos anos, principalmente sob condições anóxicas, ou seja, na ausência de oxigênio (READMAN et al., 2002). Entre as substâncias que compõem o petróleo, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) apresentam grande preocupação ambiental, pois possuem ampla distribuição e são encontrados como constituintes de misturas complexas em todos os compartimentos (PEREIRA NETO et al., 2000).

Uma das principais vias de entrada dos HPAs no meio ambiente é atribuída a diversos acidentes ambientais, relacionados ao processo de extração do petróleo,

seu transporte e possíveis vazamentos no decorrer dos processos ligados à cadeia extrativa/produtiva.

Pode-se observar na Figura 1, imagens de três acidentes ambientais que ilustram o exposto anteriormente.

Figura 1. Imagens de acidentes ambientais causados pelo vazamento de petróleo. **A)** Paraná 2000: óleo cru nos rios Arroio Saldanha, Barigui e Iguaçu; **B)** Paraná: caranguejo coberto de petróleo **C)** Golfo do México: 2010 explosão da plataforma Deepwater Horizon; **D)** Louisiana, 2000: pássaro coberto de petróleo; **E)** Alagoas, 2019: mancha de óleo praia do Pontal do Peba; **F)** Cabo de Santo Agostinho, 2019: caranguejo coberto de óleo na praia.



Fonte: Google imagens

O maior vazamento de petróleo no estado do Paraná ocorreu na cidade de Araucária nos dutos da Refinaria Presidente Getúlio Vargas (Repar)no Oleoduto Santa Catarina-Paraná (OSPAR) (LUBYI, 2021), pertencente à Petrobrás em julho de 2000 com o vazamento de quatro milhões de litros de petróleo cru (25.000 barris) causando a contaminação de toda a região dos rios Arroio Saldanha, Barigui e Iguaçu, prejudicando todo o ecossistema exposto (Figura 1A e 1B). De acordo com Roni Barbosa, membro da Comissão de Investigação do Acidente, membro do Sindicato dos Petroleiros do Paraná e Santa Catarina (Sindipetro), após 20 anos, as consequências do vazamento ainda podem ser percebidas: “Ainda hoje tem petróleo brotando do solo no terreno da refinaria. Os danos são quase que permanentes” (CUT BRASIL online 17/07/2020). Em 2021 no dia 8 outubro a Petrobras assinou acordo no valor de R\$ 1,4 bilhão em três Ações Cíveis Públicas (ACPs) que apuram danos ambientais decorrentes deste vazamento. A companhia, entretanto, ressalta que o acordo não implica reconhecimento jurídico dos danos alegado, nem de prática de conduta ilícita pela Petrobras. Mesmo após 21 anos não há indícios de uma responsabilização séria envolvendo ações e esforços na recuperação da região afetada (O GLOBO online 08/10/2021).

A Figura 1C ilustra acidente de grandes proporções no Golfo do México em 2010 com o vazamento de 4 milhões de barris no mar em decorrência da explosão da plataforma Deepwater Horizon, pertencente à inglesa British Petroleum (BP). Em seguida observamos derramamento de petróleo, em 2000 na Louisiana (EUA) que deixou cerca de 200 aves correndo sério risco de morte, e por último nas Figuras 1E e 1F um dos mais recentes vazamentos no Brasil que atingiu 409 localidades no Nordeste do país. Segundo balanço divulgado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), ao menos 104 municípios de todos os nove Estados do Nordeste foram afetados por fragmentos ou manchas de petróleo cru desde 30 de agosto de 2019. Segundo o Ministério da Saúde, o Nordeste tem 153 municípios litorâneos, o que significa que o óleo chegou em cerca de 67,9% das cidades da costa da região. Balanço do Ibama indica que apenas 166 das 409 localidades atingidas estão "limpas", isto é, sem vestígios ou manchas do petróleo.

1.1. HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são contaminantes historicamente conhecidos, sendo relatados primeiramente pelo médico inglês Percivall Pott na segunda metade do século XVIII. Percivall diagnosticou diversos casos de câncer no saco escrotal em pacientes que tinham como única característica em comum a atividade laboral, todos exerciam a profissão de limpadores de chaminé (COGILANO et al., 2010).

Os HPAs são contaminantes orgânicos compostos apenas por carbono e hidrogênio, constituídos de dois ou mais anéis aromáticos fundidos (Tabela 1), de origem natural ou antropogênica, sendo resultante de pirólise de material orgânico e combustão incompleta. São onipresentes no meio ambiente, ocasionando níveis mensuráveis de exposição de fundo na população em geral (COGILANO et al., 2010). Estes compostos apresentam propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas, sendo considerados dentre a classe de hidrocarbonetos, os mais tóxicos existentes, razão da grande importância dos estudos acerca desta classe de compostos. (SISINNO, 2003).

Apesar do conhecimento da existência de centenas de HPAs diferentes, apenas alguns são considerados importantes para estudos ambientais, a União Européia (LERDA et al., 2011) recomenda o monitoramento de 15 HPAs, a Agência de Proteção Ambiental norte Americana (*Environmental Protection Agency*, EPA) considera um grupo de 16 HPAs como sendo prioritários para estudos ambientais (JRC *European Union* 66955, 2011) e a NIOSH (*National Institute for Occupational Safety and Health*) instituição também norte americana, recomenda 17 HPAs como prioritários, além dos 16 da EPA adiciona-se o benzo(e)pireno. Para este estudo consideramos os recomendados pela EPA, sumarizados na Tabela 1 (WHO, 2011).

A Agência Internacional de Pesquisas para o Câncer (*International Agency of Research on Cancer*, IARC) estabelece uma classificação quanto a carcinogenicidade dos compostos (Tabela 1). Esta classificação é determinada por diversos estudos revisados e avaliados de possíveis agentes carcinogênicos como os HPAs, em cenário controlado (laboratório) e não controlado, com exposição ao composto ou à mistura complexa de compostos, considerando também o estilo de vida e os fatores biológicos e físicos dos expostos (IARC, 2020).

Tabela 1. Estrutura dos 16 HPAs considerados prioritários pela Environmental Protect Agency (EPA) dos Estados Unidos e as respectivas massas molar (g mol^{-1}), número CAS, ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$), pressão de vapor, solubilidade em água (mg mL^{-1} a 25°C), $\text{Log } K_{ow}$, constante de Henry ($\text{Pa m}^3\text{mol}^{-1}$ à 20°C) classificação de carcinogenicidade pela International Agency of Research on Cancer (IARC):

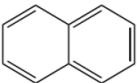
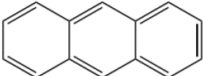
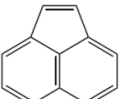
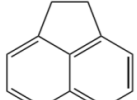
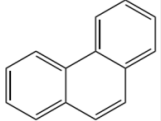
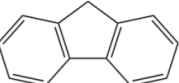
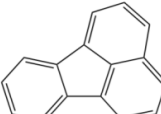
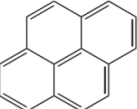
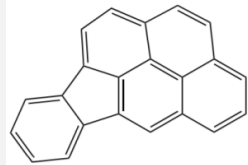
HPA	Abreviação	MM (g/mol)	Número CAS	P.F ($^{\circ}\text{C}$)	Pressão De Vapor	Log K_{ow}	Solubili dade	Constant e de Henry	Classific ação IARC	Agência	ESTRUTURA QUÍMICA
Naftaleno	Naf	128,171	91-20-3						-	EPA/ NIOSH	
Antraceno	Ant	178,229	120-12-7	216,4	$8,0 \times 10^{-4}$	4,5	0,0436	5,64	3	EPA/ NIOSH	
Acenaftileno	Acef	152,192	208-96-8						-	EPA/ NIOSH	
Acenafteno	Ace	154,208	83-32-9	95	0,29	3,92	3,9	18,5	-	EPA/ NIOSH	
Fenantreno	Fen	178,229	85-01-8	100,5	0,016	4,52	0,977 1,18	4,29	3	EPA/ NIOSH	
Fluoreno	Flu	166,219	86-73-7	115-116	0,08	4,18	1,68	9,81	3	EPA/ NIOSH	
Fluoranteno	Flt	202,251	206-44-0	108,8	0,00123	5,20	0,205 0,26	1,96	3	EPA/ NIOSH	
Pireno	Pir	202,251	129-00-0	150,4	0,00060	5,00	0,130 0,135	1,71	3	EPA/ NIOSH	

Tabela 1. (continuação)

HPA	Abreviação	MM (g/mol)	Número CAS	P.F	Pressão De Vapor	Log K _{ow}	Solubili dade	Constant e de Henry	Classific ação IARC	Agência	ESTRUTURA QUÍMICA
<i>Criseno</i>	Cri	228,288	218-01-9	253,8		5,89	0,00179	0,53	2B	EPA/EU/ NIOSH	
<i>Benzo(a)antraceno</i>	BaA	228,2879	56-55-3	160,7	$2,8 \times 10^{-5}$	5,91	0,0090	1,22	2B	EPA/EU/ NIOSH	
<i>Benzo(a)pireno</i>	BaP	252,309	59-32-8	178,1		6,35	0,00162 -0,0038	0,034	2A	EPA/EU/ NIOSH	
<i>Benzo(b) fluoranteno</i>	BbF	252,309	205-99-2	168,3		5,78	0,0015	0,051	2B	EPA/EU/ NIOSH	
<i>Benzo(k) fluoranteno</i>	BkF	252,309	207-08-9	215,7		6,11	0,0008	0,044	2B	EPA/EU/ NIOSH	
<i>Benzo(g,h,i) perileno</i>	BghiP	276,331	191-24-2	278,3		6,90	0,00026	0,0027 (20°C)	3	EPA/EU/ NIOSH	
<i>Dibenzo(a,h) antraceno</i>	Dib	278,347	53-70-3	266,6		6,75	0,00050		2A	EPA/EU/ NIOSH	

Tabela 1. (continuação)

<i>HPA</i>	<i>Abreviação</i>	<i>MM (g/mol)</i>	<i>Número CAS</i>	<i>P.F</i>	<i>Pressão De Vapor</i>	<i>Log K_{ow}</i>	<i>Solubili dade</i>	<i>Constant e de Henry</i>	<i>Classific ação IARC</i>	<i>Agência</i>	<i>ESTRUTURA QUÍMICA</i>
<i>Indeno (1,2,3-cd)pireno</i>	Ind	276,331	193-39-5	163,6			0,00019	0,029 (20C)	2B	EPA/EU/ NIOSH	

LEGENDA:K_{ow}: constante de equilíbrio octanol/água

P.F: ponto de fusão

CAS: Chemical Abstract Service

EPA: Environmental Protect Agency

EU: European Union

NIOSH: National Institute for Occupational Safety and Health

CLASSIFICAÇÃO IARC:

- **Grupo 1:** O agente (mistura) é carcinogênico em humanos*;
- **Grupo 2A:** O agente (mistura) é provável carcinógeno para humanos*;
- **Grupo 2B:** O agente (mistura) é possível carcinógeno para humanos;
- **Grupo 3:** O agente (mistura) não possui classificação de sua carcinogenicidade em humanos*;
- **Grupo 4:** O agente (mistura) é provável não carcinógeno em humanos*.

*As circunstâncias de exposição implicam nesta carcinogenicidade em humanos

As propriedades físico-químicas das substâncias são importantes ferramentas para o entendimento da dinâmica dos contaminantes no ambiente e nos seres expostos. Ao iniciar os estudos ambientais com o conhecimento das propriedades dos compostos, como constante de equilíbrio octanol-água (K_{ow}), pressão de vapor e a constante de Henry, a escolha das matrizes a serem estudadas é mais assertiva para a condução dos estudos de exposição. A baixa solubilidade em água e os altos valores de $\log K_{ow}$ demonstram maior afinidade por matéria orgânica e não pela fase aquosa, ou seja, se o estudo é conduzido em ambiente aquático, pode-se encontrar HPAs ao analisarmos não somente a água, mas na matéria orgânica e o sedimento que se encontram suspensos na água ou depositados.

A pressão de vapor e a constante de Henry nos indicam a probabilidade de se encontrar estas substâncias na atmosfera, os baixos valores de pressão de vapor nos mostra que os compostos são pouco voláteis, logo, será mais provável encontrá-los investigando o material particulado atmosférico e não a fase vapor.

A relação do tamanho molecular dos HPAs e sua consequência à saúde já é bem estabelecida na literatura. HPAs de menor massa molar são tóxicos para organismos aquáticos, enquanto os de maior massa molar apresentam extrema carcinogenicidade e mutagenicidade (KARLSSON e VIKLANDER, 2008).

Portanto, conhecendo as propriedades físico-químicas podemos aumentar as chances de localizar esses contaminantes nos organismos que habitam o local de estudo ou que percorrem o local para se alimentar, pois teremos uma ideia se houve efetiva exposição a estes contaminantes por via dérmica e/ou alimentar. Assim, é possível definir não somente as amostras ambientais escolhidas, como também os

tipos de organismos expostos e partes destes a serem estudadas para verificar o provável acúmulo e danos causados pela exposição aos HPAs.

Os HPAs prioritários podem ser divididos de acordo com o tamanho, e separados por semelhanças em suas propriedades físico-químicas, fornecendo informações das fases mais prováveis de serem encontrados: fase gasosa ou agregados em material particulado na atmosfera (PEREIRA NETO et al., 2000).

- **BAIXA MASSA MOLAR-** HPAs constituídos de três anéis aromáticos ou menos, com faixa de massa molar $128-178 \text{ g mol}^{-1}$ são suficientemente voláteis para estarem presentes como compostos gasosos no ambiente. Estão nesta classe as seguintes substâncias: acenaftileno (Acef), acenafteno (Ace), naftaleno (Naf), fluoreno (Flu), fenantreno (Fen) e antraceno (Ant)
- **MÉDIA MASSA MOLAR-** HPAs com massa molar de 202 g mol^{-1} podem estar presentes tanto na fase gasosa quanto nas partículas suspensas, sendo estes o fluoranteno (Flt), pireno (Pir), criseno (Cri) e benzo(a)antraceno (BaA).
- **ALTA MASSA MOLAR-** HPAs de baixa volatilidade, sendo classificados como compostos semi voláteis (OLLIVON et al., 1999) encontrados em sua maioria nas partículas. Caracterizados pela massa molar maior de 228 g mol^{-1} constituídos de 5 anéis aromáticos ou mais, incluem as seguintes substâncias: benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF), benzo(a)pireno (BaP), Indeno(1,2,3-cd)pireno (Ind), dibenzo(a,h)antraceno (Dib) e benzo(g,h,i)perileno (BghiP).

1.1.1. HPAs e Saúde Humana

Os HPAs são moléculas com grande potencial mutagênico (HAN et al., 2019) e por isso há grande interesse no desenvolvimento de métodos que possam diagnosticar a ocorrência e dinâmica ambiental destes compostos, bem como a exposição do homem e da biota.

A mutagenicidade se refere a capacidade que uma substância ou condição ambiental possuem em induzir ou aumentar a frequência de mutações no organismo. As mutações podem ocorrer espontaneamente, ou podem ser

provocadas por agentes físicos (mutágenos físicos) ou químico (mutágenos químicos) (KARP et al., 2005).

O DNA, material genético dos organismos vivos, contém a informação genética codificada na sequência de suas bases nitrogenadas. Se esta sequência é alterada por mutação, a informação genética é modificada (genotoxicidade), e caso isto ocorra em células germinativas, esta alteração pode ser transmitida de geração para geração. Por outro lado, quando estes agentes atingem o DNA de células somáticas, isto é, as demais células do corpo, ocorre a alteração dos mecanismos celulares normais que controlam a multiplicação celular, podendo originar células cancerosas (PRADO, 2014).

Uma grande variedade de dados científicos endossa à hipótese de que fatores ambientais constituem a maior causa de câncer, conforme explica a teoria da mutação somática. Existem também sólidas evidências experimentais de que as substâncias carcinogênicas ou seus derivados metabólicos são também mutagênicos, este fato fortalece a hipótese de que estes agentes químicos atuam de modo a produzir alteração no DNA, por meio de reações químicas (KARP et al., 2005).

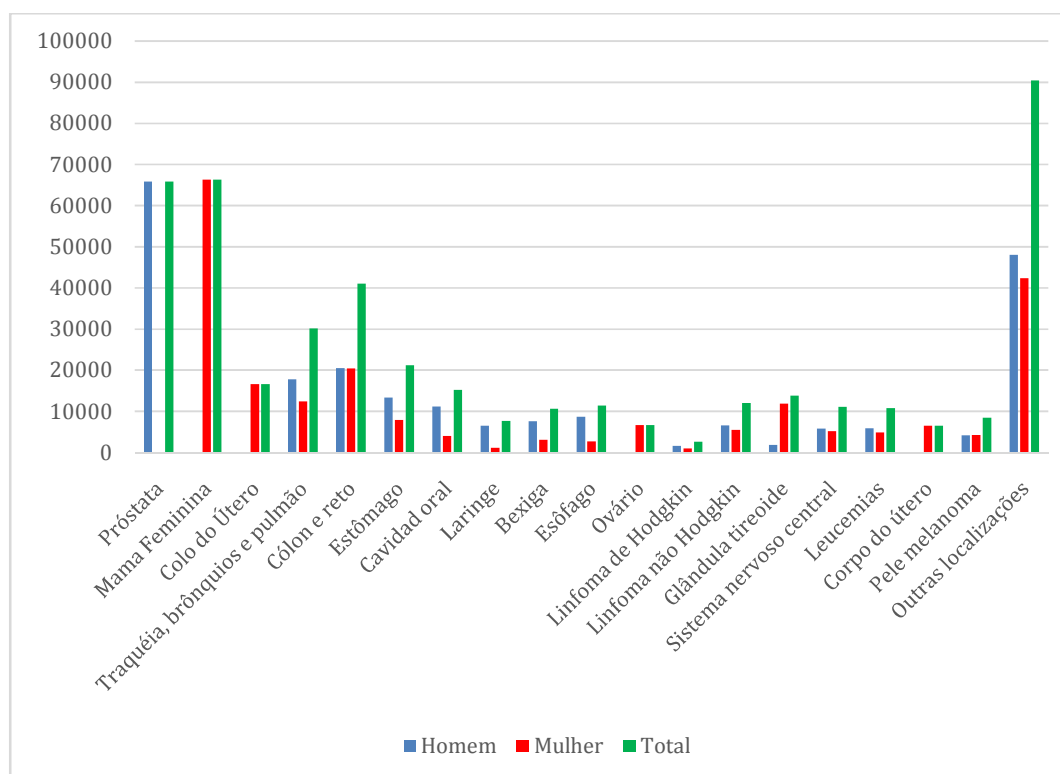
Conhecido há muitos séculos, o câncer foi amplamente considerado como uma doença de países desenvolvidos e com grandes recursos financeiros. Há aproximadamente quatro décadas, o cenário foi modificado e a maior parte do ônus global do câncer pode ser observada em países em desenvolvimento, principalmente aqueles com poucos e médios recursos (DA SILVA et al., 2020). Isto se deve principalmente a questões relacionadas a problemas ambientais e falta de recursos.

Assim, nas últimas décadas, o câncer ganhou uma dimensão maior, convertendo-se em um problema evidente de saúde pública mundial. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que, no ano de 2030, pode-se esperar 27 milhões de novos casos de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas com câncer, diagnosticado ou não. O maior efeito desse aumento vai incidir em países de baixa e média renda (DA SILVA et al., 2020).

Para o Brasil as estimativas para o biênio de 2018-2019 (Figura 2) foram de 540 mil novos casos (INCA 2017) e para cada ano do triênio 2020-2022 apontam que

ocorrerão 625 mil casos novos de câncer, mostrando um aumento de mais de 15% por ano entre as últimas estimativas realizadas pelo INCA (INCA, 2019).

Figura 2. Estimativa anual de novos casos de displasia no Brasil para o triênio 2020-2022 para cada 100 mil habitantes.



Fonte: INCA 2019

As exposições aos HPAs e a outros vários contaminantes conhecidos ocorrem de maneira passiva, pois estes estão presentes constantemente no ambiente em que habitamos, no ar que respiramos, na alimentação que consumimos dentre outras exposições mais específicas como as ocupacionais e pontuais.

1.1.1.1. Carcinogenicidade

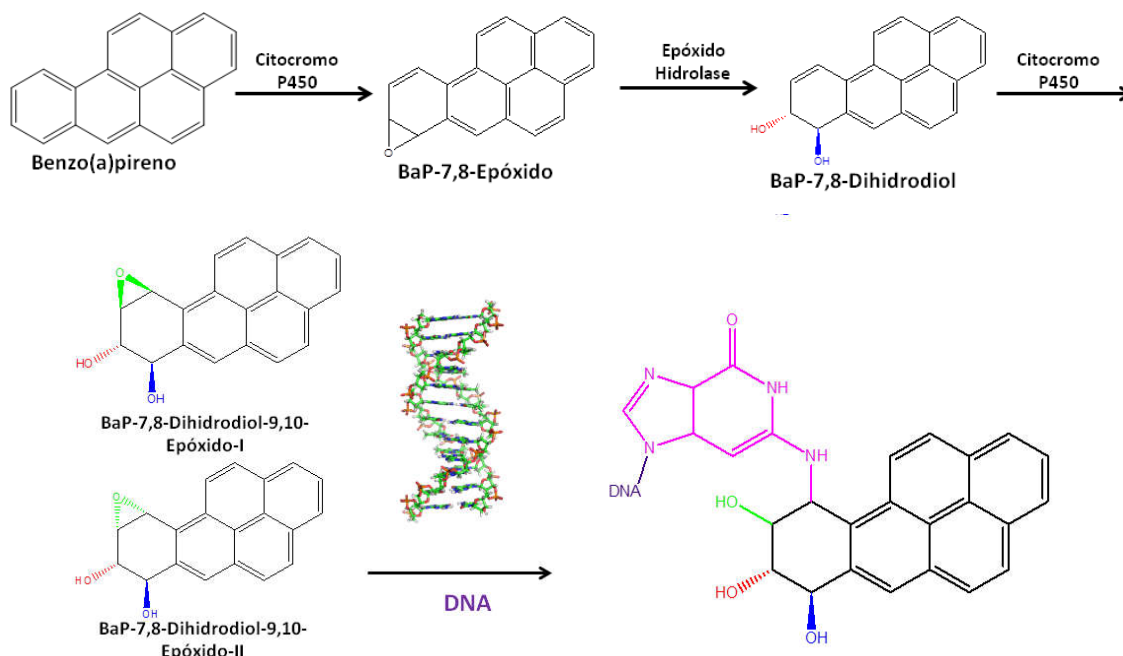
As atividades carcinogênicas de um composto em particular são dependentes de diversos fatores estruturais da molécula como forma, tamanho, fatores estéricos e potencial de ionização. Várias investigações estão sendo efetuadas em sistemas biológicos, tecidos de animais e em sistemas de bioensaios, para decifrar o mecanismo de ação carcinogênica quando expostos a determinada concentração de HPAs (TOMASETING et al., 2020; SERNA et al., 2020).

As características comuns dentre os carcinógenos orgânicos é a reatividade química de um de seus metabólitos quando exposto ao organismo da espécie suscetível, uma fração do composto administrado é convertido em um metabólito reativo o qual pode iniciar o processo carcinogênico. MILLERS e MILLERS apud KATIYAR; AGARWAL; MUKHTAR (1993, p. 11) resumiram pela primeira vez a relação estrutura-atividade indicando que todos os carcinógenos são eletrofílicos no início ou são transformados em um metabólito eletrofílico.

A atividade carcinogênica dos HPAs foi descrita primeiramente por BROOKES e LAWLEY p. 781 (1964 apud KATIYAR, AGARWAL e MUKHTAR, 1993, p. 11):

“Os metabólitos responsáveis pela atividade carcinogênica devem ser também os responsáveis pela ligação covalente com o DNA, uma vez que após o tratamento dérmico com HPA radioativos, em estudos com ratos, estes são encontrados ligados covalentemente ao DNA da pele.”

A maioria dos carcinógenos, especialmente os HPAs, são quimicamente pouco reativos. Para se tornar reativos, os HPAs devem ser ativados metabolicamente pelas enzimas do sistema citocromo P450 no fígado, que são responsáveis pelas reações oxidativas. O metabólito reativo formado é capaz de se ligar ao DNA e a organelas citoplasmáticas; iniciando a resposta carcinogênica final (Figura 3).

Figura 3. Mecanismo proposto para a ação mutagênica do benzo(a)pireno

Fonte: a autora.

1.1.1.2. Alteração Endócrina

O Sistema Endócrino é constituído por diversas glândulas e tecidos que secretam substâncias responsáveis pelo controle da maioria das funções biológicas. As substâncias secretadas são chamados hormônios e atuam em tecidos alvos ligando-se a receptores específicos.

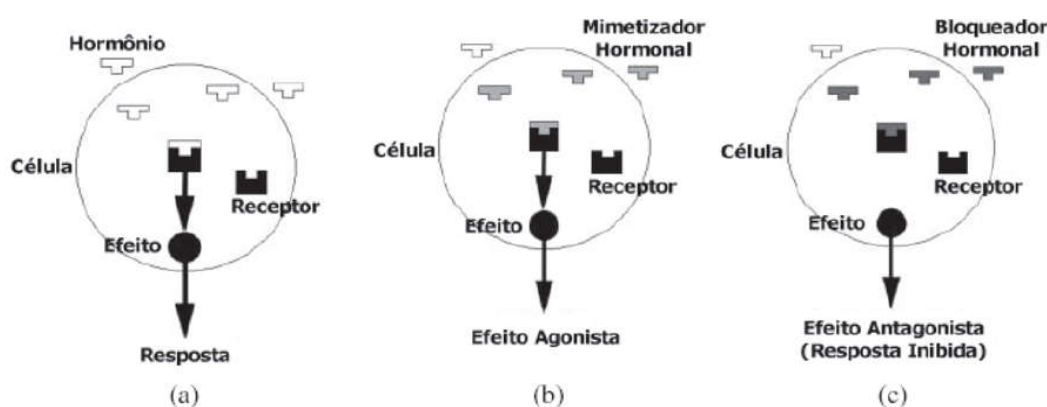
Um alterador endócrino é um agente externo que interfere na síntese, secreção, transporte, ligação ou eliminação de hormônios no organismo, que são responsáveis pela manutenção da homeostase, reprodução, desenvolvimento ou comportamento. Podem causar alterações em diferentes níveis atingindo, células, órgãos, indivíduos e até mesmo populações inteiras (JUVANCZ et al., 2008).

Os HPAs como alteradores endócrinos foram primeiramente descritos em modelos animais, e depois em ensaios com células e proteínas (ZHANG et al., 2016).

Algumas publicações sugerem que os HPAs, seus derivados hidroxilados e os nitro HPAs contendo 4 e 5 anéis podem interagir como alteradores endócrinos. Na Figura 4A observamos a ação natural do hormônio, se ligando ao sítio receptor

específico e ativando assim a resposta hormonal, na Figura 4B uma substância atua de forma agonista, se passando pelo hormônio natural, se encaixando no sítio de ligação específico, provocando uma resposta hormonal potencializada e na Figura 4C observamos o efeito antagonista, que causa a diminuição da resposta hormonal, a substância se liga ao sítio de ligação específica o inutilizando, diminuindo a disponibilidade destes receptores, causando a queda da resposta (SANTODONATO, 1997).

Figura 4. Disfunções endócrinas: **(a)** resposta natural; **(b)** efeito agonista; **(c)** efeito antagonista.



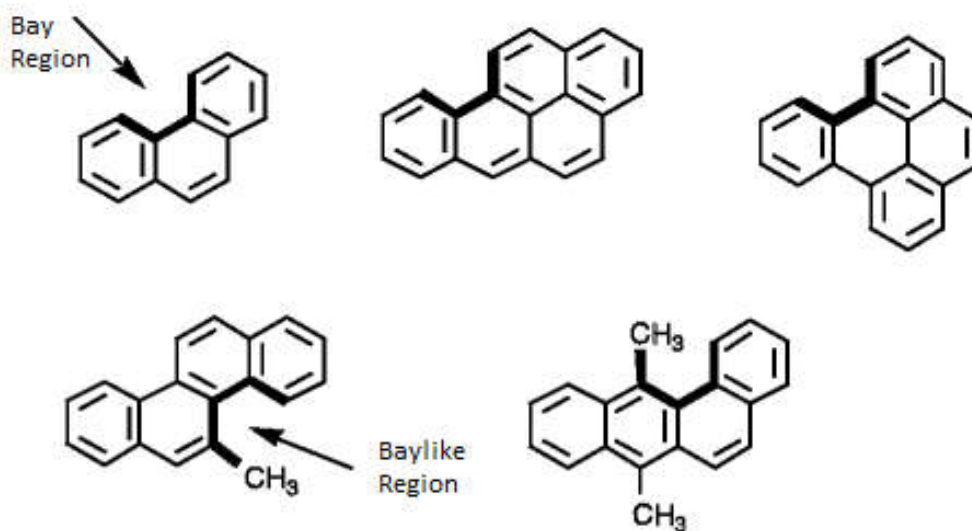
Fonte: GHISELLI e JARDIM, 2007

Estudos de exposições prolongadas ao benzo(a)pireno em células de Leyding (células que quando estimuladas produzem o hormônio testosterona) de ratos mostraram uma diminuição da qualidade do esperma do epidídimo (pequeno ducto que coleta e armazena os espermatozoides produzidos nos testículos) que pode estar associado a redução nos níveis de testosterona (CHUNG et al., 2011; CAMPOS, 2020).

MANSOUR e colaboradores (2020) correlaciona uma baixa saúde reprodutiva de homens que exercem atividades na indústria de coque. Neste estudo vários parâmetros foram investigados em sangue e sêmen para correlacionar com as concentrações encontradas de 1-hidroxipireno em urina. O 1-hidroxipireno é metabólito do pireno que ocorre comumente em abundância e por isso é indicado como biomarcador de exposição aos HPAs (ALEKSEENKO, et al. 2020).

Segundo os estudos de KUBINCOVÁ e colaboradores (2019) os HPAs de baixa massa molar contendo região de baía (bay) ou similar (baylike) Figura 5, causam rápida desregulação na comunicação intercelular em células dos testículos, resultando em disfunção reprodutiva.

Figura 5. Estrutura da região de Baía (Bay) e região similar de Baía (Baylike)



Fonte: HENKLER, STOLPMANN e LUCH; 2012

Outras consequências à exposição aos HPAs podem ser citadas como a alteração no mecanismo responsável por guiar a expressão de genes que desempenham papel essencial na regulação da diferenciação celular, alteração no desenvolvimento e metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, aumentando o risco de desenvolvimento de diabetes (ROSLUND et al., 2019).

1.1.2. HPAs e Meio Ambiente

Os HPAs são contaminantes ambientais onipresentes gerados de forma natural e antrópica. São investigados em diversas matrizes e ambientes, como solo de creches e berçários (ROSLUND et al., 2019), de área urbana (HINDERSMANN & ACHTEN, 2018) de plantações (ZHAN et al., 2014), aerossóis atmosférico (MIURA et al., 2019), sedimento de rios (KIM et al., 2018), sedimento marinho e organismo marinho (FRAPICCINA et al., 2018), fitoplâncton (KOTTUPARAMBIL e AGUSTI,

2020), lodo de rios (CHOUERI et al., 2008; WANG et al., 2012; BANIEMAM et al., 2017), dentre outros. Estas investigações tem por objetivo avaliar as fontes pontuais ou a influência de outras fontes já extintas, a relação entre concentração de contaminantes e consequências observadas, ou a constatação de valores de exposição humana permitidos ou não pelas leis ambientais de cada país.

No Brasil, existem o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) órgão consultivo e deliberativo responsável pelas leis de proteção ao meio ambiente e a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo), órgão estadual responsável por controlar, fiscalizar, monitorar e licenciar as atividades geradoras de contaminações ambientais.

Em relação as legislações vigentes no Brasil para HPAs em amostras ambientais, existem apenas os dispostos pelas Resoluções CONAMA 420/2009 e 357/2005 que tratam das concentrações de alguns HPAs em solo e águas potável, salobra, subterrânea, doce e salina. A CETESB como órgão responsável pelo monitoramento no Estado de São Paulo forneceu importante documento consultivo para este estudo, reportando em 2001 concentrações de HPAs em diversos locais no litoral de São Paulo, incluindo a Baixada Santista.

A Baixada Santista agrega grande diversidade tanto ambiental quanto de fontes antrópicas geradoras de HPAs. Em sua zona costeira há grande diversidade de ecossistemas que alternam entre mangues, praias, campos de dunas e estuários, além de outros ambientes com significativa riqueza natural, muitos destes localizados dentro de áreas de preservação ambiental como o Parque Estadual Restinga de Bertiooga. Quanto as fontes de contaminação por HPAs podemos citar: combustão de matéria orgânica, combustão de combustível fóssil, cadeia extrativa do petróleo e contaminações provenientes do Porto de Santos.

1.1.3. Ocorrência de HPAs no Mangue

Ao iniciar um estudo ambiental, é importante ter acesso a informações de concentrações reportadas para os analitos de interesse em matrizes e contexto ambiental similar, para que as estratégias ambientais e analíticas escolhidas tenham a confiabilidade requerida.

O ecossistema de mangue é de grande importância, sendo rico em matéria orgânica e biomassa que fornecem alimentação, proteção e condições de reprodução para uma grande variedade de espécies animais locais e da zona costeira que freqüentam esses ecossistemas, fazendo deles verdadeiros berçários e celeiros naturais da biodiversidade marinha. Representam ecossistema-chave, pois estima-se que 70 a 80% das espécies de interesse comercial passam pelo menos uma fase da vida neste ambiente, sendo a sua preservação de suma importância para o bom funcionamento de outros ecossistemas maiores e mais diversos que se estendem além dos limites de um bosque de mangue (SCHAEFFER-NOVELLI, 1999; KATHIRESAN; BINGHAN, 2001).

Reconhecendo a elevada importância ecológica e os benefícios diretos e indiretos desse ecossistema, no Brasil os manguezais são considerados “Áreas de Preservação Permanente” quando forem fixadoras de dunas ou estabilizadoras de mangues conforme o artigo 4º da Lei Federal 16.651 de 2012, “em toda a sua extensão”, também são considerados ecossistemas integrantes do bioma Mata Atlântica protegido pelas Leis 11.428 de 2006 (Lei da Mata Atlântica) e 12.651 de 2012 (Código Florestal). Além destas também existem os tratados internacionais aos quais o Brasil é signatário, que protegem as áreas de mangue por serem parte integrante das zonas úmidas e possuem proteção da sua fauna e flora e de toda a sua biodiversidade: Convenção de Washington (1946), Convenção de Ramsar (1971), Convenção de Bonn (1979) e a Convenção da Diversidade Biológica (1992) (THAMES, 2017).

O CONAMA (Conselho Nacional de Meio Ambiente) possui a resolução 303 de 2002, que estava sendo discutida judicialmente para que ocorra a diminuição da proteção das restingas e dos manguezais.

As concentrações reportadas na literatura para soma de HPAs em amostras ambientais de sedimento de mangue ou marinho possuem valores bastante variados que podem ser observados na Tabela 2. No Brasil, valores unitários de concentração em $\mu\text{g kg}^{-1}$ foram encontrados na Baía de Todos os Santos (BA) e em oposição na China valores de milhares $\mu\text{g kg}^{-1}$ foram observados em estudo de sedimento de mangue em 2014. Estas concentrações geralmente são expressas como o somatório dos HPAs estudados, em sua maioria os 16 considerados prioritários como citado no item 1.1.

Tabela 2. Concentrações de Σ HPA encontradas em sedimentos marinho e mangue em amostras provenientes de diferentes regiões.

ANO	Autor	País	Σ HPAs	Concentração Σ HPAs ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Matriz
2018	MACÍAS-ZAMORA, MENDONZA-VEGA e VILLAESCUSA-CELAYA	Brasil	16	7,6-813	Sedimento superficial
2018	EL MADNY	Arábia Saudita	16	105,39	Sedimento superficial
2017	ASSUNÇÃO et al.	Brasil	16	6,8-437,3	Sedimento de mangue
2017	BANIEHAM et al.	Irã	16	17,3- 926,7 14,3-85,8	Sedimento superficial marinho Inverno outono
2017	TIWARI, SAHU e PANDIT	Índia	16	219-1925	Sedimento
2014	CESAR et al.	Brasil	23	0 -576,5	Sedimento
2014	LI et al.	China	16	1649-7925 313-2847 1189-5168	Sedimento mangue Futian Baguang Waterland
2012	WANG et al.	China	16	38,7-136,2	Sedimento mangue
2012	CHENG-DI DONG, CHIH-FENG CHEN e CHIU-WEN CHEN	Tailândia	16	13,196	Sedimento superficial
2009	TORRES et al.	Brasil	16	679,3 479,05	Sedimento (draga) Sedimento (T. Alemoa)
2008	VENTURINI et al.	Brasil	23	8,29 - 4163	Sedimento < 0,63mm
2006	BICEGO et al.	Brasil	23	22,6 - 68130	Sedimento superficial
2005	MARTINS et al.	Brasil	24	44,3 - 494,5	Sedimento
2004	MEDEIROS e BÍCEGO	Brasil	12	79,6 - 6843,6	Sedimento
2004	VENTURINI e TOMMASI	Brasil	13	8 - 4163	Sedimento

1.1.4. HPAs Ratios

De acordo com as concentrações de HPAs individuais e seus isômeros, encontrados no ambiente, pode-se estimar a origem da contaminação por meio dos cálculos de razão de diagnóstico chamados de RATIOS. Já são conhecidos diversas razões diagnóstico aplicadas na literatura, alguns calculando a simples razão e outras aplicando a Equação 1 sendo utilizados HPAs de mesma massa molar (A e B)

$$\text{Equação 1: } \frac{A}{A + B}$$

Quando não se conhece a região estudada a primeira investigação a cerca da origem dos HPAs é a definição da origem petrogênica, pirogênica ou natural, existindo diversas razões utilizadas como fenatreno/antraceno, fluoranteno/pireno e benzo(a)antraceno/criseno (YUNKER et al., 2002). Após esta análise a aplicação de outras razões podem ser usadas para inferir a possível fonte pirogênica, se combustível fóssil ou não benzo(b)fluoranteno/benzo(k)fluoranteno (TOBISZESKI e NAMIESNIK, 2012) e indeno(1,2,3-cd)pireno/benzo(g,h,i)perileno (ZHANG et al., 2005).

Foram observadas na literatura razões de diagnóstico que verificam o aumento de emissões industriais (benzo(a)antraceno/benzo(g,h,i)perileno); diferenciação entre as fontes de tráfego, combustão de carvão, madeira e óleo (benzo(a)pireno/benzo(g,h,i)perileno) (JIANG et al., 2009) dentre outras.

Fontes **petrogênicas** são todos os produtos de origem do petróleo, **pirogênica** é a fonte advinda da combustão em altas temperaturas com a depleção do oxigênio, fontes **naturais** são as maneiras que se formam HPAs na natureza, processos de plantas e fungos por exemplo. As fontes pirogênicas podem ser diferenciadas de acordo com o material utilizado para a combustão, de origem vegetal (madeira, carvão vegetal, vegetação, etc) ou fóssil.

O uso dessas proporções é baseado na estabilidade termodinâmica relativa de alguns isômeros de HPAs. HPAs formados por reações rápidas de condensação serão termodinamicamente menos estáveis do que aqueles formados por processos

mais lentos, como diagênese que é o conjunto de processos químicos e físicos que ocorrem no sedimento, desde a sua deposição até sua consolidação e catagênese, processo em que com o aumento de pressão a parte insolúvel da matéria orgânica formada a partir dos lipídios, proteínas e carboidratos dos seres vivos (querogênio), se altera, resultando em matéria orgânica fóssil, como petróleo ou carvão, definida como fontes petrogênicas que são enriquecidas com estes isômeros (SANTOS, BREHM et al., 2017; YUNKER et al., 2002). Portanto, essas relações/ratios podem ser empregadas para entender melhor a distribuição dos HPAs e diagnosticar as principais fontes geradoras no ambiente (SOUZA, 2010).

Para este trabalho foram utilizadas algumas destas razões de diagnóstico, conforme descrito a seguir.

1.1.4.1. Diferenciação entre Algumas Fontes Petrogênicas e Pirogênicas

1- Fenantreno/Antraceno (Fen/Ant): a relação é dependente apenas da temperatura, fenantreno é o isômero triaromático mais estável e quando sua concentração é muito maior que a concentração do antraceno, a hipótese de possível fonte petrogênica é suportada, podendo ser utilizada relação simples como: **Fen/Ant** >>> 1,0: indica possíveis fontes petrogênicas e **Fen/Ant** < 1,0: indica possíveis fontes pirogênicas.

Há várias interpretações na literatura, para este trabalho utilizamos limites mais abrangentes:

- ✓ **Fen/Ant** < 5 provável origem pirogênica (exceto para a queima de gasolina que apresenta valores entre 5-9);
- ✓ 10 > **Fen/Ant** > 5 fontes mistas;
- ✓ 30 > **Fen/Ant** > 10 fontes mistas (descartando a combustão do diesel, carvão e creosoto);
- ✓ **Fen/Ant** > 30 provável fonte petróleo.

Algumas considerações importantes sobre o fenantreno em relação ao antraceno: quando livres o fenantreno é muito menos fotodegradável do que o antraceno, no solo ele é mais degradável, é protegido por substâncias húmicas qd não está ligado a partículas, não há mudança entre as degradações quando se

estuda sedimentos e a influência da deposição atmosférica. Esta relação é totalmente dependente da matriz em estudo.

2- Fluoranteno/Pireno (Flt/Pir): semelhante ao anterior, esta razão é correlacionada com a temperatura de formação, termodinamicamente o fluoranteno é menos estável que o pireno:

- ✓ **Flt/Pir** $\leq 0,5$ indica provável fonte petrogênica, porém a combustão de diesel e outros lubrificantes também apresentam essa razão;
- ✓ $0,5 < \text{Flt/Pir} < 1,0$ fontes mistas, porém emissão de automóveis também resulta neste intervalo;
- ✓ **Flt/Pir** $> 1,0$ fontes pirogênicas como combustão de carvão ou biomassa são provavelmente dominantes.
- ✓ **Flt/Pir** $> 1,2$ é utilizado como limite máximo para fontes petrogênicas.

3- Benzo(a)antraceno/Criseno (BaA/Cri): o benzo(a)antraceno é preferencialmente formado durante a combustão de biomassa e combustível fóssil, quando comparado ao criseno.

- ✓ **BaA/Cri** $< 0,25$ fontes petrogênicas
- ✓ $0,25 < \text{BaA/Cri} \leq 0,5$ fontes mistas
- ✓ **BaA/Cri** $\geq 0,50$ fontes pirogênicas

1.1.4.2. Diferenciação entre algumas fontes pirogênicas:

1- Benzo(b)fluoranteno/Benzo(k)fluoranteno (BbF/BkF): a relação é utilizada em amostras de solo e sedimentos urbanos, sendo minimamente influenciada sob condições aeróbicas de degradação e evaporação, é limitada a aplicação de diferentes tipos de creosoto.

- ✓ **BbF/BkF** = 0,9 madeira e fuligem
- ✓ **BbF/BkF** = 1,2 creosoto
- ✓ **BbF/BkF** = 1,3 emissões veiculares
- ✓ $2,5 \leq \text{BbF/BkF} \leq 2,9$ derretimento de alumínio
- ✓ **BbF/BkF** = 3,7 forno de coque

2- Indeno(1,2,3-cd)pireno/Benzo(g,h,i)perileno (Ind/BghiP): a relação é utilizada para distinguir diferentes fontes pirolíticas especificamente as emissões veiculares em sedimentos contaminados (ZHANG et al., 2005; VAN DROOGE et al., 2012)

- ✓ **Ind/BghiP** < 0,25 forte influência petrogênica
- ✓ **0,25 < Ind/BghiP < 1,0** possível fontes mistas, a maioria das fontes pirogênicas se encontram neste intervalo, exceto alguns lubrificantes, combustão de gasolina e de diesel.
- ✓ **Ind/BghiP > 1,0** combustível petrogênico, se certas fontes petrogênicas forem descartadas (asfalto, partículas de pneu e carvão).

3- Pireno/Benzo(a)pireno (Pir/BaP): esta razão pode indicar a contribuição de fluxos terrigênicos negligenciados no sistema aquático, pode ser usado para discriminar combustão de madeira da combustão de carvão, mas não para diferenciar as fontes de combustão de espécies de diferentes de madeira.

- ✓ **Pir/BaP** ~ 0,7 queima de madeira
- ✓ **Pir/BaP** ~ 1,0 queima de gasolina
- ✓ **Pir/BaP** ~ 10 diesel
- ✓ **Pir/BaP** > 10 fontes petrogênicas

Existem também algumas razões de diagnóstico que utilizam a somatória dos HPAs separados em grupos de baixa massa molar (L) e alta massa molar (H):

Equação 2:

$$\frac{L}{H} = \frac{\sum \text{Fen} + \text{Ant} + \text{Pir} + \text{Flt}}{\sum \text{BaA} + \text{Cri} + \text{BkF} + \text{BaP} + \text{Ind} + \text{Dib} + \text{BghiP}}$$

L/H > 1 FONTE PETROGÊNICO L/H < 1 FONTE PIROGÊNICA

Equação 3:

$$\frac{L_{HPA}}{H_{HPA}} = \frac{\sum \text{Naf} + \text{Ace} + \text{Act} + \text{Fen} + \text{Ant}}{\sum \text{Flt} + \text{Pi} + \text{Cri} + \text{BaA} + \text{BbF} + \text{BkF} + \text{BaP} + \text{Ind} + \text{Dib} + \text{BghiP}}$$

L_{HPA}/H_{HPA} ≥ 2,3 FONTE PETROGÊNICO L_{HPA}/H_{HPA} ≤ 0,4 FONTE PIROGÊNICA

Na Tabela 3 estão apresentados alguns dos valores para relações de diagnósticos encontrados na literatura, segundo a Equação 1 (pag.46), são apresentadas também as fontes correspondentes atribuídas.

Tabela 3. Relações de diagnóstico (RATIOS, eq.1 , pg 19) para HPAs, encontradas na literatura

REFERÊNCIA	A	B	RATIOS (Eq.1)	FONTES ATRIBUÍDAS
SANTOS et al., 2016 PIES et al., 2008	Antraceno	Fenantreno	<0,1	Petrogênica
			>0,1	Pirrogênica
VILLAR-VIDAL, 2014	Indeno(1,2,3-cd)pireno	Benzo(ghi)perileno	<0,2	Petrogênica
			0,2-0,5	Combustão de combustível fóssil
			>0,5	Combustão de lenha, carvão, etc
DE LA TORRE et al., 2009	Fluoranteno	Pireno	<0,4	Petrogênica
			0,4-0,5	Combustível fóssil
			>0,5	Combustão de madeira e gramíneas
RAVINDRA et al., 2008	Fluoreno	Pireno	>0,5	Emissão diesel
			>0,5	Emissão de petróleo
YUKER et al., 2002	Benzo(a)antraceno	Criseno	<0,2	Petrogênica
			>0,35	Combustão de petróleo
			>0,5	Combustão de plantas, madeira e petróleo

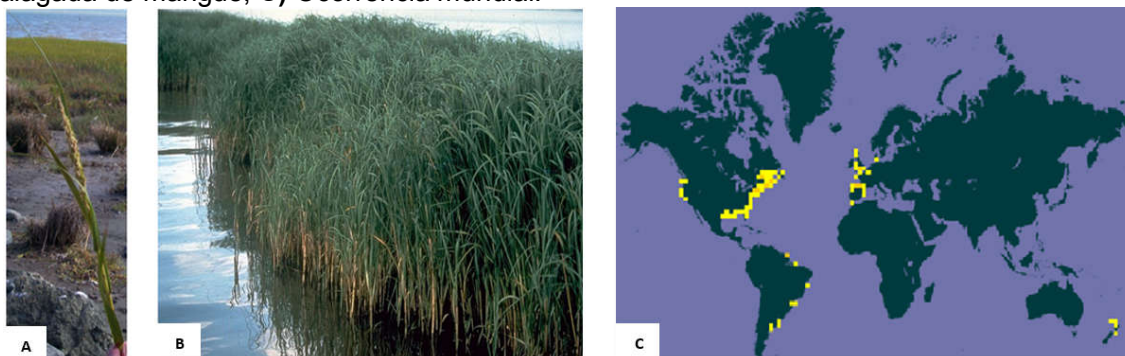
Os RATIOS têm sido utilizados no diagnóstico da fonte emissora de HPAs em diferentes matrizes ambientais como água, sedimento, solo, folhas, caule, pinhas de coníferas e mexilhões (TOBISZEWSKI & NAMIESNIK, 2012).

1.2. *Spartina alterniflora*

O gênero *Spartina* é formado por 16 espécies de gramíneas perenes que estão largamente distribuídas, sendo nativas de toda a costa do Oceano Atlântico, ocorrendo principalmente nas Américas do Norte e Sul, é uma gramínea adaptada a estuários, ocorrendo na região de entre marés, onde existe variação de salinidade e períodos de exposição e inundação. Dentre as representantes do gênero, *Spartina alterniflora* (Figura 6A e 6B) é a mais característica de manguezais, não se restringindo à região de marisma (KLEIN et al., 1981 apud AMÉRICO 2010).

A espécie ocupa as zonas mais baixas de estuários em diversas regiões costeiras ao longo do continente americano (COSTA & DAVY, 1992) Figura 6C. Vegetação típica de marismas da região sul do Brasil, a *S. alterniflora* apresenta-se como espécie dominante das porções frequentemente alagadas.

Figura 6. **A)** Floração de *Spartina alterniflora*; **B)** Predominância da espécie em região alagada de mangue; **C)** Ocorrência mundial.



Fonte: google imagem 2017

Fonte: Global Biodiversity Information Facility 2017

A *Spartina alterniflora* foi escolhida para este estudo por ser uma espécie invasora, resistente, abundante e pelos inúmeros relatos na literatura de seu potencial de biorremediação de solos e sedimentos contaminados, como nos estudos envolvendo evento de derramamento de petróleo com os objetivos de: avaliar sua capacidade de recolonização após o evento (LINDAU et al., 1999; PEZESHKI, 2000; LIN et al., 2002), investigar o acúmulo de metais em seus tecidos e seus efeitos (LACERDA, 1997; VIANA, 1999, YANG, DING e YUAN, 2020; CAI et al., 2020) e seu uso em projetos de fitorremediação observando as respostas desta espécie aos contaminantes (PEZESHKI, 2000; MENDELSSOHN & LIN, 2003; XIE et al., 2020).

A quantificação de HPAs em amostras provenientes de regiões estuarinas (sedimento, água e *Spartina alterniflora*) pode indicar o nível de contaminação do local, em relação a estes contaminantes, bem como auxiliar na identificação de possíveis fontes desta contaminação por meio dos cálculos de razão de diagnóstico. Além disso, os dados podem apontar para o possível potencial de *Spartina alterniflora* na biorremediação de mangues impactados por HPAs.

1.3. HISTÓRICO DA BAIXADA SANTISTA COM RELAÇÃO À EXPOSIÇÃO AOS HPAS

Utilizou-se mapas da CETESB (2001), para o reconhecimento do histórico e as possíveis fontes de HPAs na região em estudo, sendo de grande importância a localização das instalações industriais (**Anexo A**), dos locais de disposição de descarte industrial (**Anexo B**), fontes de poluição associados a falta de saneamento básico (**Anexo C**) e principalmente as concentrações de alguns HPAs relatados pela CETESB (**Anexos D1 a D12**). Além disso, foram investigados outros possíveis locais afetados por eventos de natureza antrópica, ocorrido nos últimos anos antes da coleta de amostras na Baixada Santista. Os acontecimentos que foram considerados de relevância para o estudo estão relatados a seguir.

1.3.1 ANO DE 2010: EXPLORAÇÃO EM ESCALA COMERCIAL DO PRÉ-SAL.

O pré sal foi descoberto no final de 2007, e compreende uma extensa reserva de petróleo e gás natural abaixo de uma camada de sal, deste fato deriva o nome. Localizado em grandes profundidades oceânicas que se estende por 800 km entre os litorais do Espírito Santo e de Santa Catarina (Figura 7) formando as Bacias de Santos que abrange os estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e uma parte do Rio de Janeiro, e a Bacia de Campos que abrange parte do Rio de Janeiro e Espírito Santo.

Figura 7. Localização da faixa do pré sal em azul mais escuro e divisão das Bacias de Campos e de Santos.



Fonte: google imagem 2021

A capacidade produtiva do pré-sal está em constante evolução, nos anos de 2010, 2014, 2016 e 2018 a produção respectiva foi de 41mil, 500 mil, 1 milhão e 1,5 milhões de barris de petróleo por dia, em 2018 haviam 77 poços de extração em atividade. No ano de 2020, nos meses de julho e agosto, a produção no pré-sal registrou novos recordes consecutivos de 2,18 e 2,20 milhões de barris por dia, extraídos de 117 poços em atividade, correspondendo a 70,7% da produção nacional (BRASIL, 2020).

Devido a localização que pode atingir 300 km da costa, profundidade de até 5000 metros de coluna d'água e acréscimo da camada de sal, a extensa faixa e a rápida evolução na capacidade extrativa do pré-sal, o impacto ambiental proveniente desta atividade é bastante preocupante. No intuito de amenizar tais preocupações a Petrobrás encomendou um Relatório de Impacto Ambiental (RIMA), efetuado pela Mineral Engenharia e Meio Ambiente (VIGLIO, DI GIULIO e FERREIRA, 2017).

O relatório de outubro de 2017 (Atividade de produção e escoamento de petróleo e gás natural do polopré-sal da Bacia de Santos – ETAPA 3), que trata das

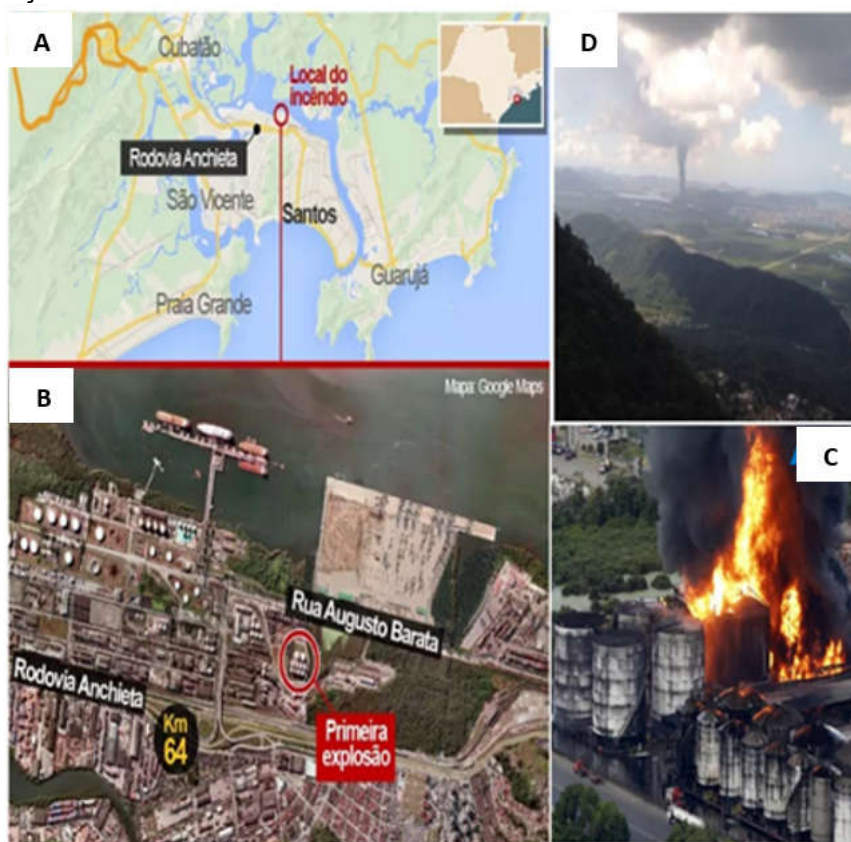
atividades de produção e escoamento de petróleo e gás natural do polo pré-sal da Bacia de Santos, determina que em caso de vazamento de óleo na Bacia de Santos será acionado imediatamente o Plano de Emergência para Vazamento de Óleo da Área Geográfica da Bacia de Santos (PEVO-BS), com disponibilização de recursos materiais e humanos em tempo hábil, pois o tempo de chegada dos recursos é menor do que o tempo de toque na costa.

O estudo abrange as consequências sócio econômicas e ambientais imediatas sem levar em conta o acúmulo de contaminantes nos compartimentos ambientais atingidos e consequências aos organismos e subseqüentes gerações, não diminuindo as preocupações em relação a influência da cadeia extrativa do petróleo no meio ambiente.

1.3.2 ANO DE 2015: INCÊNDIO ALEMOA

O incêndio em tanques de armazenamento da empresa COSIPA, situado no bairro da Alemoa, localizado em São Vicente (SP) (Figura 8A e 8B) durou cerca de 9 dias, causando prejuízos ambientais à curto e longo prazo. Como prejuízos imediatos foram observados: o aumento da temperatura das águas em torno do local, ocasionando a morte de milhares de peixes (LYRA, 2015) e a alta taxa de problemas respiratórios da população próxima, por consequência da espessa nuvem negra (Figura 8C e 8D) que permaneceu por vários dias no local do incêndio (SALLES, 2015).

Figura 8.Incêndios que atingiram a região de São Vicente **A)** localização do bairro da Alemoa; **B)** localização dos terminais de armazenamento líquido que explodiram; **C)** foto do evento; **D)** fumaça vista da rodovia.



Fonte:google imagens 2017

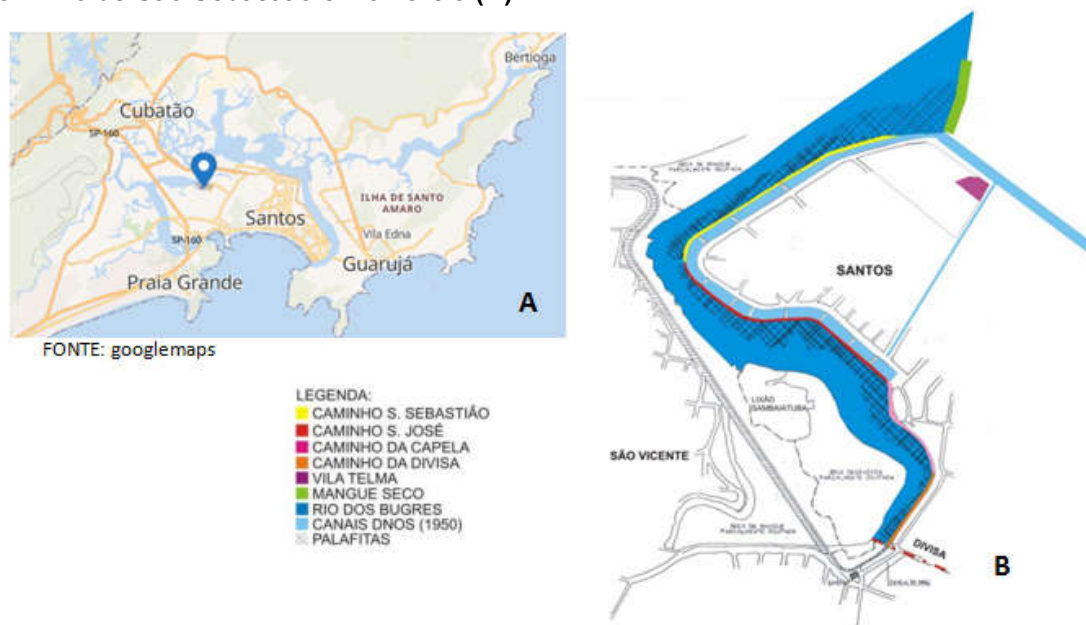
A grande quantidade de material utilizado para combater o incêndio LFE (líquido formador de espuma) ou LGE (líquido gerador de espuma), somada ao combustível queimado por dias ocasionou uma grande descarga de substâncias químicas no meio ambiente, atingindo rios e estuários próximos, causando possíveis danos aos compartimentos atingidos e à biota local. De acordo com informações do corpo de bombeiros cerca de 300 mil litros de LFE/LGE foram utilizados para combater o incêndio na Alemoa (MONTONE et al., 2018). Segundo pesquisas os AFFF (aqueous film forming foam), em português espumas formadoras de filme aquoso, um tipo de LFE/LGE em altas concentrações são tóxicos para as plantas e altera o perfil microbiano dos solos contaminados modificando o equilíbrio existente no ambiente (MONTAGNOLLI e BIDOIA, 2015).

1.3.3 ANO DE 2017: INCÊNDIO NA COMUNIDADE DE PALAFITAS DENOMINADA CAMINHO DE SÃO SEBASTIÃO.

A região de Santos possui o que já foi conhecido como o maior complexo de favelas sobre palafitas do Brasil, este complexo é chamado de DIQUE DA GILDA e é composto por seis subáreas: Mangue Seco (homenagem a novela Tiêta do Agreste), Vila Telma (homenagem a ex-prefeita Telma de Souza), Caminho de São Sebastião (homenagem a um famoso morador benzedeiro), Caminho São José (homenagem a 43 moradores homônimos), Caminho da Capela (existência de um marco religioso) e Caminho da Gilda (último aglomerado que se estende até a divisa de São Vicente).

O incêndio de 2017 ocorreu no Caminho de São Sebastião (amarelo Figura 9B), um dos maiores aglomerados que compõe o DIQUE DA GILDA, localizado mais ao norte da cidade de Santos (Figura 9 A).

Figura 9. Localização do Dique da Gilda **(A)** organização do Dique da Gilda, localização do Caminho de São Sebastião em amarelo **(B)**



O incêndio atingiu o Caminho de São Sebastião (Figura 10B) destruindo cerca de 200 moradias de palafita (Figura 10D), os bombeiros demoraram 2 horas e meia para que o fogo fosse extinto. Como podemos observar na Figura 10A, a região onde se encontra a comunidade de palafitas já possui perfil de mangue fortemente impactado pelo aumento populacional desordenado às margens do Rio dos Bugres (Figura 10A) onde não há saneamento básico, ocasionando o acúmulo de lixo e esgoto descartados sem controle (Figura 10C) próximo ao rio segundo informações da AGÊNCIA BRASIL (2017).

Figura 10. Caminho de São Sebastião: **A)** foto de parte do conjunto de construções irregulares de palafita; **B)** foto do evento; **C)** foto da degradação ambiental próximo à estas construções; **D)** fotos após o evento.



Fonte: google imagenn 2017

Por decorrência destes e outros eventos na região escolhida para o estudo, a literatura apresenta valores diversificados de somatório dos HPAs em amostras ambientais, podendo ser atribuídos aos diferentes locais de amostragem de cada estudo, refletindo a diversidade das fontes destes compostos nesta região. Observamos na Tabela 4 valores que variam de 0,100 a 733 mil $\mu\text{g kg}^{-1}$. O menor

valor encontrado de somatória de HPAs foi observado entre a Baía de Santos e o início do Estuário de Santos, sob a influência da movimentação das correntes marítimas que podem transportar os contaminantes para outros locais. A maior concentração foi relatada pela CETESB em amostras do Canal da Cosipa que pela denominação geográfica compreende o limite físico de um rio, lamaçal ou estreito de oceano, não estando a influência de grande movimentação para transporte de contaminantes, podendo ser considerado um local de armazenamento contínuo.

Tabela 4. Valores de Σ HPAs na Baixada Santista, informadas em estudos na literatura

ANO	AUTORES	LOCAL	Σ HPA $\mu\text{g kg}^{-1}$	TIPO DE AMOSTRA
2018	PERINA et al.	Estuário Santos-São Vicente	0,025-6,84	Sedimento superficial
2009	TORRES et al.	Porto de Santos	27,8-679,3	Sedimento dragado
2009	CHOUERI et al.	Santos e São Vicente	$2-42 \times 10^3$	Sedimento
2007	CESAR et al.	Estuário de Santos e São Vicente	0,11-0,95	Sedimento
2006	BICEGO et al.	Estuário de Santos e São Vicente	$22,6-6,8 \times 10^3$	Sedimento
2006	CESAR et al.	Estuário Santos-São Vicente	0,50-576	Sedimento
2004	MEDEIROS E BÍCEGO	Estuário de Santos	$79 \sim 15 \times 10^3$	Sedimento
2001	NISHIGUIMA, WEBER e BÍCEGO	Santos	$80-42 \times 10^3$	Sedimento
2001	CETESB	Canal da Cosipa	$109 \times 10^3 \sim 734 \times 10^3$	Sedimento mangue
		Canal de Bertioga	$2,9 \times 10^3 \sim 5,9 \times 10^3$	Sedimento mangue

1.4. EXTRAÇÃO E ANÁLISE DOS HPAS.

Diferentes métodos de extração de HPAs são observados na literatura em matrizes de interesse ambiental, como pode ser visto na Tabela 5, na qual foram incluídos trabalhos que abordam a extração de HPAs em amostras sólidas, semelhantes aos deste estudo, incluindo de 12 a 23 HPAs.

Tabela 5. Algumas técnicas de extração e quantificação de HPAs em amostras ambientais.

ANO	AUTOR	PAÍS	MATRIZ	TÉCNICA DE EXTRAÇÃO	TÉCNICA DE QUANTIFICAÇÃO	HPAs
2018	EL MARADNY	Arábia Saudita	Sedimento Raízes Folhas	Soxhlet	GC-MS	16
2017	MONTANO et al	Brasil	Sedimento	Soxhlet		12
2017	MAHUGIJA, AHMED e MAKAME	Tanzânia	Sedimento	Ultrassom	GC-MS	
2015	AICHNER et al.	Alemanha	Solo	ASE	GC-MS	16
2015	AL DABBAS, ALLI e AFAJ	Iraque	Folhas de Eucalyptus Solo	-	HPLC-FLU e GC-MS	16
2015	HE et al.	Tibet	Solo	Soxhlet	GC-MS	15
2015	LI et al.	China	Sedimento superficial (mangue) Pântano Raíz Plantas	ASE	GC-MS	16

Tabela 5. (continuação)

ANO	AUTOR	PAÍS	MATRIZ	TÉCNICA DE EXTRAÇÃO	TECNICA DEQUANTIFICAÇÃO	HPAs
2015	ALBANESE et al.	Itália	Folhas de <i>Q. ilex</i> Solo	Ultrassom	GC-MS	14
2015	OBRIST,ZIELLINSKA e PERLINGER	EUA	Solo	ASE	GC-MS	23
2015	SUKHDHANE et al.	Índia	Sedimento mangue	Soxhlet	GC-FID	16
2015	WANG et al.	China	Solo urbano Solo suburbano Solo rural	Soxhlet	GC-MS	16
2012	WANG et al.	China	Folhas, caule e raiz de <i>Phragmites</i> Folhas, caule e raiz de <i>Spartina alterniflora</i> Folhas,sementes e rizoma de <i>Scirpus</i>	ASE	GC-MS	16
2011	FUJITA	Brasil	Solo superficial	Dispersão em fase sólida	HPLC-FLU	16

LEGENDA:

GC-MS: gas chromatograph-mass spectrometryGC-FID: gas chromatograph-detector flame ionization

ASE: accelerated solvent extraction HPLC: High performance liquid chromatograph

Considerando-se os trabalhos compilados na Tabela 5, a técnica de extração por solventes (Soxhlet e ASE) aparece com maior frequência, a extração por Soxhlet, apesar de consumir mais tempo e volume de solventes do que outras técnicas, ainda é utilizada, por ser a técnica preconizada pela EPA (U.S. EPA SW-846 *Method 3545A: PAH Extraction from Soil, Sludge, and Marine Sediment*). A extração acelerada por solventes (ASE - *Accelerated Solvent Extraction*) é a mais empregada dentre as técnicas modernas de extração, pela possibilidade de adaptação da técnica descrita pela EPA em um dispositivo utilizando menor volume de solvente orgânico que suporte altas pressões, o problema desta técnica é a quantidade de compostos que são extraídos, gerando interferências na separação e quantificação dos compostos de interesse.

A extração por solventes em banho de ultrassom e a dispersão de matriz em fase sólida, são técnicas de extração que também são empregadas na extração de HPAs em sedimento. Das técnicas de extração descritas é a técnica de maior acessibilidade, por não apresentar utilização de equipamentos sofisticados e específicos e foram aplicadas a este trabalho.

Ainda segundo o levantamento bibliográfico da Tabela 5 o detector mais utilizado para análises de HPAs separados por cromatografia gasosa é o espectrômetro de massas, que na verdade é um analisador dividido em 3 etapas, ionização, análise e detecção. Primeiramente o composto é separado no cromatógrafo, passa por uma fonte de ionização e ocorre o processo de ionização, este íon formado passa pelo analisador e espectros de massa (com os valores de m/z em função da sua abundância) serão gerados, os íons são ejetados em ordem crescente de sua relação massa/carga. Esse movimento gera uma corrente iônica que é multiplicada e produz um sinal proporcional ao número de íons da amostra que são detectados.

A identificação dos compostos é feita pela combinação única de átomos que as moléculas possuem e como cada tipo de átomo e seus isótopos existem em uma única razão na natureza, a razão entre a intensidade do íon molecular e as intensidades dos picos isotópicos fornecem informações sobre o número de cada tipo de átomo presente na molécula (AMARAL, OLIVEIRA e BUSTILLOS, 2011).

Muitos sistemas dispõem de um banco de dados (biblioteca), esta biblioteca permite a identificação da estrutura pela comparação entre os espectros da substância estudada e os da base de dados, gerando uma probabilidade de

confirmação da identidade do composto (NASCIMENTO et al., 2019). Apesar de todas as vantagens apresentadas pela cromatografia gasosa a cromatografia líquido com detecção de fluorescência (HPLC-FLU) continua a ser empregada, pela grande detectabilidade, baixo custo (quando comparado aos custos de manutenção de GC-MS) e alta seletividade. O que torna esta técnica seletiva e específica é a possibilidade de trabalhar com comprimentos de ondas específicos de excitação e emissão, podendo selecionar os melhores comprimentos de absorção e emissão do analito de interesse e assim excluir ou atenuar o sinal de demais interferentes da amostra. A sensibilidade da técnica advém da posição dos detectores, a fonte de luz é geralmente colocada a 90° em relação ao feixe de luz incidente para minimizar o risco de luz incidente transmitida ou refletida atingir o detector. A espécie necessariamente precisa ser um fluoróforo, ou seja, a espécie química deve ter a capacidade de absorver energia e liberar radiação eletromagnética para ocorrer o fenômeno da fluorescência (LAKOWICZ, 2010).

Este detector consiste em uma lâmpada, seguida por um filtro ou uma rede de difração. A luz gerada incidirá sobre a amostra causando a excitação da mesma. Ao retornar ao estado fundamental, o composto emite um feixe de luz que é dirigido a um filtro ou monocromador, que seleciona o comprimento de onda emitido, fazendo-o incidir no fotodetector.

1.5. TESTES BIOLÓGICOS:

O conhecimento da toxicidade tem como objetivo ampliar o entendimento do impacto da exposição aos contaminantes presentes em matrizes ambientais, não somente na flora como na fauna dos pequenos organismos que ali vivem e se expõem continuamente. Estes estudos são chamados de estudos toxicológicos ou ecotoxicológicos.

A toxicidade, segundo RODRIGUES (2005), é uma propriedade inerente a agentes tóxicos ou não, na qual reflete o potencial em causar efeitos danosos a diferentes organismos sob condições específicas de exposição, além de ser uma propriedade, a qual deve ser levada em consideração quando se estuda contaminantes ambientais, pois o impacto causado não dependerá somente das quantidades e sim da característica individual danosa ou não aos seres vivos.

A ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos adversos das substâncias químicas (naturais ou sintéticas) nos ecossistemas e a sua ação nos organismos (WISEMAN et al., 2001). A avaliação da toxicidade das substâncias presentes em matrizes ambientais pode ser medida por meio de ensaios de fitotoxicidade, que é a ação tóxica ou reação adversa que uma substância presente no meio provoca nas plantas, a qual pode ser determinada pela germinação das sementes, alongamento da raiz e crescimento da muda (LABRE et al., 2008). Os testes de toxicidade em organismo são efetuados expondo os organismos em seu meio natural com adição do contaminante em estudo, seja água, sedimentos ou solo e avaliando assim os efeitos da contaminação na sobrevivência, crescimento, reprodução, comportamento e/ou outros atributos que possam ser monitorados.

1.5.1. TESTE DE FITOTOXICIDADE

O teste de fitotoxicidade é um critério para avaliar os níveis de toxidez, a germinação de plantas e o comprimento da raiz têm sido bastante utilizado na determinação da toxicidade de resíduos por ser uma técnica simples, rápida, segura e reproduzível para avaliar os danos causados pelas combinações tóxicas presentes nesses materiais (KOMILIS; TZIOUVARAS, 2009).

Os testes que utilizam plantas superiores são considerados eficientes para a avaliação e monitoramento da toxicidade de poluentes e têm sido utilizados em estudos sobre a fitotoxicidade em águas e sedimentos contaminados (FERNANDES et al., 2007; CZERNIAWSKA-KUSZA & KUSZA, 2011). Sua principal vantagem é a ampla variedade de parâmetros de toxicidade, como a taxa de germinação, ganho de biomassa, alongamento de raízes e aspectos bioquímicos, além de apresentar baixo custo e possibilidade de serem realizados continuamente (ŽALTAUSKAITE & ČYPAITE, 2008).

As sementes de *Lactuca sativa* têm sido bastante utilizadas e fornecem diversas vantagens sobre outros organismos testes, principalmente devido ao baixo custo e fácil cultivo (KOMILIS; TZIOUVARAS, 2009), está entre os organismos-teste mais utilizados para avaliar a fitotoxicidade e a citogenotoxicidade de efluentes domésticos e industriais (ŽALTAUSKAITE & ČYPAITE, 2008; ANDRADE et al., 2010) sendo esta espécie recomendada por agências internacionais para tal finalidade.

A necessidade de testes rápidos e sensíveis para o diagnóstico da qualidade de água e solos reflete-se no mundo todo. Bioindicadores têm sido aplicados em ensaios eficazes de toxicidade aguda, complementando os parâmetros físico-químicos de efluentes ou lixiviados. Salienta-se que o ensaio com semente de alface pode ser utilizado para amostras contaminadas com alguma substância ou mistura complexa líquida ou de sólidos solubilizados em solução aquosa.

1.5.2. TESTES EM ORGANISMOS

No Brasil os ensaios com organismos aquáticos são solicitados pela CETESB em diversas ocasiões, como processos de licenciamento, para caracterização e acompanhamento de impactos de novos empreendimentos, na avaliação de risco em áreas contaminadas, no controle de efluentes, em autorizações para uso de produtos em corpos hídricos e avaliações de acidentes ambientais (CETESB, 2017). Esses testes auxiliam mostrando se as concentrações de contaminantes em um determinado local são altas o suficiente para causar efeitos adversos nestes organismos (EPA, 1994).

Existem na literatura e na legislação brasileira organismos testes considerados modelos para cada tipo de análise de acordo com o ambiente onde será efetuada a coleta de material e o propósito das análises. A primeira característica importante a ser avaliada sobre o organismo teste é a sua disponibilidade durante o ano, não sofrer com a sazonalidade, podendo ser obtido a partir de fontes internas ou comerciais para atender ao monitoramento.

Segundo a resolução 454 do CONAMA a caracterização ecotoxicológica deve ser realizada, quando couber, em complementação à caracterização química, com a finalidade de avaliar os impactos potenciais à vida aquática.

Nas amostras de sedimento de mangue os ensaios ecotoxicológicos devem ser realizados com amostras de sedimento integral e preferencialmente para organismos do grupo dos anfípodos (CONAMA, 2012).

Para a verificação de efeitos tóxicos em amostras ambientais como água bruta, sedimento, efluentes ou de produtos, são aplicados ensaios ecotoxicológicos as amostras em estudo. A CETESB indica métodos normatizados pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), no entanto, caso necessário, a CETESB

pode solicitar estudos complementares, na inexistência de uma publicação do órgão, serão indicados métodos cientificamente reconhecidos como os publicados pela *International Standardization Organization* (ISO), *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) dentre outras.

Para EPA são considerados os seguintes organismos para teste em amostras de estuários e marinhos (EPA, 1994)

1. *Mysidopsis bahia* (para águas marinhas e estuarina)
2. *Cyprinodon variegatus* (para águas marinhas e estuarianas)
3. Ordem dos *Amphipodas* (para sedimento marinho): *Rhepoxynius abronius*, *Eohaustorius estuarius*, *Ampelisca abdita*, *Grandidier lla japonica*.

A publicação da ABNT de 2015 (ANT NBR 15638) que aborda os ensaios com anfípodos marinhos e estuarino, em sedimentos para análises ecotoxicológicas aquáticas, também indicam o uso da ordem dos *Amphipodas* como sendo a ideal para as análises das matrizes deste estudo.

O *Amphipoda* é uma ordem que agrupa pequenos crustáceos que habitam todos os ambientes marinhos, águas salobras e doces. Integram mais de sete mil espécies, entre elas cavadores de túneis e tubos e de natação livre. São utilizados para testes em sedimento, por possuir altas taxas de sensibilidade em locais contaminados (BELLAN-SANTINI, 1980; LAMBERSON et al., 1992), além de ter uma importante função nos ecossistemas bentônicos (REISH & BARNARD, 1979).

Segundo a ABNT NBR 15638 de 2015 os seguintes *Amphipodas* para testes em sedimento são descritos *Leptocheirus plumulosus* e *Tiburonella viscana* (Figura 11), para testes de toxicidade aguda em toxicologia aquática.

Figura 11. *Amphipodos Leptocheirus plumulosus* e *Tiburonella viscana*



Fonte ABNT NBR 15638 (2015)

1.6. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Os processos analíticos são realizados por meio de procedimentos que avaliam o efeito de uma variável por vez (univariado), apresentando desvantagens tais como o tempo gasto para otimização e a falta de avaliação acerca das interações entre as variáveis que afetam o processo em estudo. De acordo com BRASIL e colaboradores (2007) estas desvantagens resultam numa otimização ineficiente, impedindo o rápido estabelecimento de condições ótimas "verdadeiras", as quais são atingidas pelo emprego de sistemas multivariados.

Existem duas grandes áreas de atuação para a análise multivariada: o Planejamento de Experimentos (Design of Experiments - DOE) e a Análise Multivariada de Dados (Multivariate Analysis - MVA). O DOE parte do princípio de que um bom planejamento pode gerar resultados ótimos com tempo e custos reduzidos.

No DOE há três objetivos principais:

- a) triagem de variáveis, ou seja, focar as atenções apenas na determinação dos fatores relevantes para se atingir o objetivo desejado;
- b) otimização de experimentos: obter um modelo que forneça as condições de trabalho a serem aplicadas para se obter as melhores respostas e
- c) robustez: consequência refletida nos resultados quando há pequenas oscilações no método otimizado.

Após a obtenção de bons resultados torna-se necessária uma ferramenta para entender e interpretar todos os dados obtidos experimentalmente. Neste sentido, o MVA tem como objetivo reconhecer as principais fontes de variação de dados complexos (muitas variáveis) e tornar as informações interpretáveis através de gráficos simples.

Há diversas estratégias que podem ser empregadas, e sua escolha deve se adequar a realidade de cada experimento e o objetivo a ser atingido. Dentre os diversos tipos de planejamento experimental, os sistemas de planejamento fatorial destacam-se, pois permitem avaliar simultaneamente o efeito de um grande número de variáveis a partir de um número reduzido de ensaios experimentais quando comparados aos processos univariados (PERALTA-ZAMORA, MORAIS e NAGATA, 2005).

O planejamento fatorial 2^k utiliza k fatores analisados em 2 níveis. Este tipo de planejamento é particularmente útil nos estágios iniciais de um trabalho experimental, quando se têm muitas variáveis a investigar. Esses fatores podem ser estudados em um planejamento fatorial completo ou fracionado. O planejamento fatorial fracionado pode ser do tipo 2^{k-1} ou 2^{k-2} e estão entre os tipos mais usados de planejamento para projetos de produtos industriais e para melhoria de processos (BRASIL et al., 2007).

O planejamento fracionado é utilizado principalmente para selecionar quais fatores exercem os efeitos mais significativos na resposta desejada. Na etapa inicial de um planejamento com muitas variáveis independentes, as mais importantes são detectadas e um novo planejamento é feito considerando apenas as variáveis que apresentaram significância para o processo.

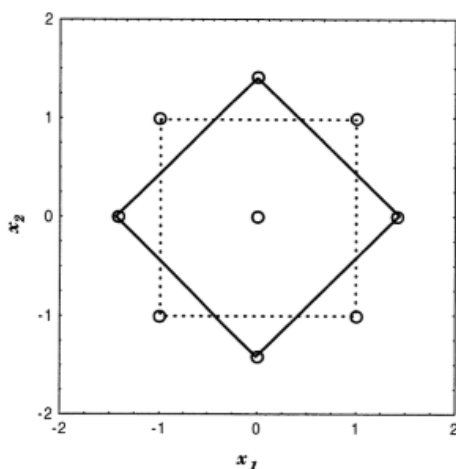
1.6.1. A superfície de resposta (RSM: Response Surface Methodology)

Superfície de Resposta é uma técnica de otimização baseada em planejamentos fatoriais que possuem duas etapas distintas: modelagem e deslocamento. A modelagem é feita normalmente ajustando-se modelos simples (em geral lineares ou quadráticos) às respostas obtidas com planejamentos fatoriais. O deslocamento sempre ocorre ao longo do caminho de máxima inclinação de um determinado

modelo ao ponto ótimo desejado, que é a trajetória na qual a resposta varia de forma mais pronunciada.

Para a localização do ponto ótimo pode-se utilizar o planejamento em estrela acrescentando ao modelo inicial um planejamento idêntico, porém girando de 45 graus em relação à posição de partida. O resultado é uma distribuição octogonal, como pode ser vista na Figura 12. Um argumento geométrico simples permite concluir que os novos pontos, assim como os primeiros, estão a uma distância de $\sqrt{2}$ unidades codificadas do ponto central. Todos eles estão, portanto, sobre uma circunferência de raio $\sqrt{2}$ (BARROS NETO, BRUNS e SCARMINIO, 2001).

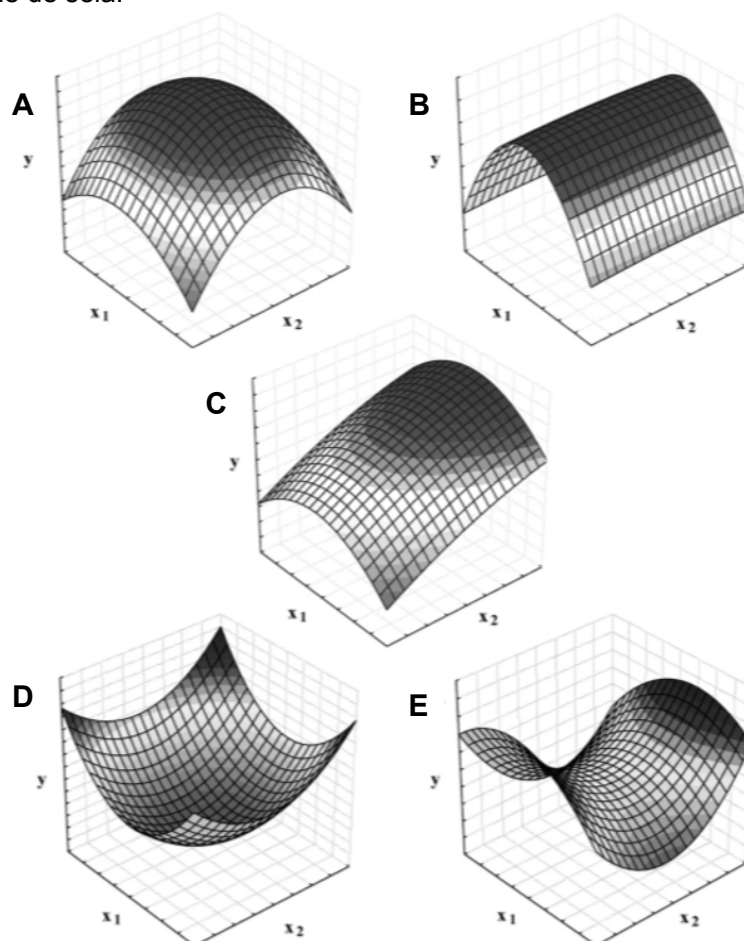
Figura 12. Planejamento em estrela



Fonte: BARROS NETO, BRUNS e SCARMINIO, 2001.

Exemplos de superfícies de resposta na otimização de duas variáveis pode ser visto na Figura 13. Os tons escuros indicam os locais onde se encontram as condições experimentais que fornecem as melhores respostas. As Figuras 13A e 13B representam uma superfície onde o ponto máximo está localizado dentro da região experimental estudada; a Figura 13C demonstra o ponto máximo fora da região experimental estudada sendo necessário deslocar, se possível, as condições iniciais do planejamento. A Figura 13D apresenta o ponto mínimo, onde encontramos as piores respostas e pode ser visto na Figura 13E o ponto de sela como ponto crítico. O ponto de sela é uma inflexão entre os pontos de máximo relativo e mínimo relativo. É possível encontrar as regiões ótimas observando as superfícies de resposta (BEZERRA et al., 2008).

Figura 13. Superfícies de respostas geradas por modelos quadráticos na otimização de duas variáveis: **(A)** máximo; **(B)** platô; **(C)** máximo; fora da região experimental; **(D)** mínimo e **(E)** superfície de sela.



Fonte: BEZERRA et al., 2008.

1.7. VALIDAÇÃO ANALÍTICA

Segundo a ANVISA a validação analítica deve garantir, através de estudos experimentais que o método atenda as exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (PORTAL ANVISA, 2019).

É de extrema importância que os estudos de validação sejam representativos e com adequadas faixas de concentrações para análise de determinado analito contido em uma matriz. Métodos para compostos que se encontra em altas

concentrações requerem critérios de aceitação e uma abordagem diferente de um método desenvolvido para determinação de baixas concentrações. Os parâmetros analíticos normalmente encontrados para validação de método analítico que inclua técnicas cromatográficas são: seletividade; linearidade; faixa de aplicação; precisão; exatidão; limite de detecção; limite de quantificação e robustez (RIBANI et al., 2004).

Estes termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico, características de desempenho e algumas vezes, como figuras analíticas de mérito e serão detalhados a seguir:

1.7.1. Seletividade: de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir na sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas.

1.7.2. Linearidade: corresponde a capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais a concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação. A correlação entre sinal medido (área ou altura do pico) e a massa ou concentração da espécie a ser quantificada. Na maior parte dos casos, a relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa da espécie de interesse deve ser determinada empiricamente, a partir de sinais medidos para massas ou concentrações conhecidas dessa espécie. Essa relação pode ser expressa como uma equação de reta chamada curva analítica.

1.7.3. Precisão: representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões sob condições definidas. A precisão é avaliada pelo desvio padrão absoluto que utiliza um número significativo de medidas, normalmente maior que 20. Na prática, em validação de método, o número de determinações é geralmente pequeno e o que se calcula é a estimativa do desvio padrão absoluto. A precisão também pode ser expressa através do intervalo de confiança da média, que é uma faixa de

valores no qual existe uma determinada probabilidade de se encontrar um certo valor de uma variável. Outra expressão da precisão é através da estimativa do desvio padrão relativo, também conhecido como coeficiente de variação.

1.7.4. Exatidão: representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança ou seja, aparece sempre associada a valores de precisão. Estes limites podem ser estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços.

1.7.5. Limite de detecção: representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando procedimento experimental, este valor corresponde à menor concentração injetada, estando ou não no intervalo linear.

1.7.6. Limite de quantificação: representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, quantificada utilizando um determinado procedimento experimental com confiabilidade analítica adequada, ou seja, no gráfico de linearidade corresponde à menor concentração pertencente ao intervalo linear (RIBANI et al., 2004).

1.7.7. Robustez: de acordo com o INMETRO (INMETRO, 2020) mede a sensibilidade que o método apresenta frente a pequenas variações. Diz-se que um método é robusto quando ele não é afetado por uma modificação pequena e deliberada em seus parâmetros.

5 CONCLUSÕES:

- Neste trabalho estabeleceram-se dois métodos analíticos, que foram validados para determinação de HPAs em concentrações da ordem de unidades ng g^{-1} , em amostras de sedimento de mangue e planta (*Spartina alterniflora*), empregando extração com pequeno volume de solvente de baixo impacto ambiental (20-40 mL, n-hexano/acetona), equipamento de baixo custo (banho de ultrassom) e baixo tempo de extração (20 minutos), em contraponto com métodos ainda largamente empregados baseados na extração por *Soxhlet* com centenas de mL de solventes de maior impacto ambiental e tempo de extração que pode chegar a algumas horas. Seguidos de processos dispendiosos e demorados de limpeza (*cleanup*) destes extratos;
- O emprego de planejamento experimental ainda é pouco frequente na otimização de métodos analíticos em estudos ambientais. Neste trabalho o emprego de ferramentas de estatística multivariada possibilitou o atingimento dos métodos com melhor desempenho com maior rapidez e com menor custo;
- Ao escolher incluir na malha amostral os mesmos pontos utilizados no estudo efetuado pela CETESB em 2001, e sendo encontrados valores para ΣHPA menores nas amostras coletadas em 2017, foi possível inferir a grande magnitude da influencia do polo industrial de Cubatão e suas transformações durante quase 20 anos entre estes estudos;
- Foram utilizados dois testes ecotoxicológicos para toxicidade aguda, que indicaram toxicidade média/alta na região estudada. No entanto, estes resultados não podem ser atribuídos apenas aos HPAs pois a região estudada possui diversas fontes que contribuem para o aumento do impacto ambiental, sendo que altas concentrações de outros contaminantes orgânicos e inorgânicos tem sido amplamente descritos na literatura;
- Considerando-se os dados obtidos nesta tese, são recomendados estudos futuros, incluindo o monitoramento de HPAs em *Spartina Alterniflora* e sedimento subjacente, nos pontos estudados, por pelo menos um ano, para compreender a dinâmica destes compostos na Baixada Santista e o comportamento desta planta em relação aos HPAs. Testes ecotoxicológicos mais abrangentes, incluindo testes de mutagenicidade (característica de diversos HPAs) e de alteração endócrina, deveriam ser efetuados em amostras de sedimento desta região para melhor avaliar o impacto ambiental.

6 REFERÊNCIAS

- AICHNER. B. et al. Regionalized concentrations and fingerprints of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in German forest soils. **Environmental pollution**. v. 203. p. 31–39. 2015.
- ALBANESE. S. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the soils of a densely populated region and associated human health risks: the Campania Plain (Southern Italy) case study. **Environmental geochemistry and health**. v. 37. n. 1. p. 1–20. 2015.
- AL-DABBAS. M. A.; ALI. L. A.; AFAJ. A. H. Determination of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in soil and in the leaves of plant (Eucalyptus) of selected locations at Kirkuk—Iraq. **Arabian Journal of Geosciences**. v. 8. n. 6. p. 3743–3753. 2015.
- ALEKSEENKO. A. et al. Determination of 1-Hydroxypyrene as a Biomarker for the Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Urine by Chromatography–Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**. v. 75. n. 1. p. 84–89. 2020.
- AMARAL. P. O.; OLIVEIRA. J. P.; BUSTILLOS. J. O. Diferentes técnicas de varredura de Áons no espectrômetro de massas aplicadas À análise de organoclorados via GC/MS.[s.d.].
- ANDRADE. L.; DAVIDE. L.; GEDRAITE. L. The effect of cyanide compounds. fluorides. aluminum. and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactucasativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 73. n. 4. p. 626–631. 2010.
- ANGULO-CUERO. J. et al. Impact of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangroves from the Colombian pacific coast: Evaluation in sediments and bivalves. **Marine Pollution Bulletin**. v. 172. p. 112828. 2021.
- AQUINO. M. Revista FLAMMAE ESPUMA NO COMBATE AOS INCÊNDIOS E SUA FITOTOXICIDADE NO CERRADO. v. 6.1 maio 2020.
- ARAUJO. M. P. et al. Assessment of brazilian mangroves hydrocarbon contamination from a latitudinal perspective. **Marine pollution bulletin**. v. 150. p. 110673. 2020.
- ASSUNÇÃO. M. A. et al. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments collected from mangroves with different levels of urbanization in southern Brazil. **Marine pollution bulletin**. v. 119. n. 1. p. 439–445. 2017.
- BALU. S. et al. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Sundarbans. the world's largest tidal mangrove forest and indigenous microbial mixed biofilm-based removal of the contaminants. **Environmental Pollution**. v. 266. p. 115270. 2020.
- BANIEMAM. M. et al. Seasonal variation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface sediments of the southern Caspian Sea. **Marine pollution bulletin**. v. 117. n. 1–2. p. 478–485. 2017.

- BARKER. S. A. Matrix solid-phase dispersion. **Journal of chromatography A**. v. 885. n. 1–2. p. 115–127. 2000.
- BARROS NETO. B. DE; SCARMINIO. I. S.; BRUNS. R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**. v. 29. p. 1401–1406. 2006.
- BELLAN-SANTINI. D. Relationship between populations of amphipods and pollution. **Marine Pollution Bulletin**. v. 11. n. 8. p. 224–227. 1980.
- BEZERRA. M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**. v. 76. n. 5. p. 965–977. 2008.
- BÍCEGO. M. C. et al. 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**. v. 52. n. 12. p. 1804–1816. 2006.
- BRITO. N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. v. 13. 2003.
- BRUNS. R. E.; NETO. B. B.; SCARMÍNIO. I. Como fazer experimentos. **Editores da Unicamp. Campinas**. 2001.
- BUOSI. D.; FELFILI. J. M. Recuperação de áreas contaminadas por pesticidas organoclorados na Cidade dos Meninos. município de Duque de Caxias. RJ. **Revista Árvore**. v. 28. p. 465–470. 2004.
- CAI. J.-F. et al. Remediation of cadmium-contaminated coastal saline-alkaline soil by *Spartina alterniflora* derived biochar. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 205. p. 111172. 2020.
- CAMPOS. I.; ABRANTES. N. Forest fires as drivers of contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons to the terrestrial and aquatic ecosystems. **Current Opinion in Environmental Science & Health**. v. 24. p. 100293. 2021.
- CAVÉ-RADET. A. et al. Increased tolerance to organic xenobiotics following recent allopolyploidy in *Spartina* (Poaceae). **Plant Science**. v. 280. p. 143–154. 2019.
- CESAR. R. et al. Disposição continental de sedimentos de dragagem em solos tropicais: avaliação do risco ecológico de metais baseada em bioensaios com organismos aquáticos e edáficos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**. v. 20. p. 181–189. 2015.
- CHUNG. J.-Y. et al. Benzo [a] pyrene reduces testosterone production in rat Leydig cells via a direct disturbance of testicular steroidogenic machinery. **Environmental health perspectives**. v. 119. n. 11. p. 1569–1574. 2011.
- COGLIANO. V. J. Identifying carcinogenic agents in the workplace and environment. **The lancet oncology**. v. 11. n. 6. p. 602. 2010.
- COSTA. C.; DAVY. A. Coastal saltmarsh communities of Latin America. In: **Coastal plant communities of Latin America**. [s.l.] Elsevier. 1992. p. 179–199.
- CZERNIAWSKA-KUSZA. I.; KUSZA. G. The potential of the Phytotoxkitmicrobiotest for hazard evaluation of sediments in eutrophic freshwater

- ecosystems.**Environmental Monitoring and Assessment**. v. 179. n. 1. p. 113–121.2011.
- DA SILVA. J. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. **Rio de Janeiro**. 2020.
- DE LA TORRE. T. et al.Trace organics removal using three membrane bioreactor configurations: MBR. IFAS-MBR and MBMBR.**Water Science and Technology**. v. 71. n. 5. p. 761–768. 2015.
- DE NICOLA. F. et al.Distribution of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in holm oak plant–soil system evaluated along urbanization gradients.**Chemosphere**. v. 134. p. 91–97. 2015.
- DE SOUZA. A. C. et al.Historical records and spatial distribution of high hazard PCBs levels in sediments around a large South American industrial coastal area (Santos Estuary. Brazil).**Journal of hazardous materials**. v. 360. p. 428–435. 2018.
- DEWITT. T. H. et al. The influence of organic matter quality on the toxicity and partitioning of sediment-associated fluoranthene.**Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**. v. 11. n. 2. p. 197–208. 1992.
- DMS. A. et al. Integrative ecotoxicological assessment of contaminated sediments in a complex tropical estuarine system.**Marine pollution: new research**. p. 125. 2008.
- DOMÍNGUEZ. C. et al. Quantification and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in core sediments from Sundarban Mangrove Wetland.India.**Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 59. n. 1. p. 49–61. 2010.
- DONG. C.-D.; CHEN. C.-F.; CHEN. C.-W. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in industrial harbor sediments by GC-MS.**International journal of environmental research and public health**. v. 9. n. 6. p. 2175–2188. 2012.
- EL-MARADNY. A. et al.PAH bioaccumulation in two polluted sites along the eastern coast of the Red Sea. Saudi Arabia.**International Journal of Environmental Science and Technology**. v. 18. n. 6. p. 1335–1348. 2021.
- FILIPKOWSKA. A.; LUBECKI. L.; KOWALEWSKA. G. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment.**Analytica Chimica Acta**. v. 547. n. 2. p. 243–254. 2005.
- FRAPICCINI. E. et al.Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) accumulation in different common sole (*Solea solea*) tissues from the North Adriatic Sea peculiar impacted area.**Marine pollution bulletin**. v. 137. p. 61–68. 2018.
- FROEHNER. S. et al. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments and their potential toxic effects.**Environmental monitoring and assessment**. v. 168. n. 1. p. 205–213. 2010.
- GEARHART-SERNA. L. M. et al. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon intake in the US adult population from NHANES 2005–2014 identifies vulnerable subpopulations. suggests interaction between tobacco smoke exposure and sociodemographic factors.**Environmental research**. v. 201. p. 111614. 2021.

- GUSSO-CHOUERI. P. K. et al. Assessing pollution in marine protected areas: the role of a multi-biomarker and multi-organ approach. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 22. n. 22. p. 18047–18065. 2015.
- HAN. J. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) geographical distribution in China and their source. risk assessment analysis. **Environmental Pollution**. v. 251. p. 312–327. 2019.
- HE. Q. et al. Effect of input pathways and altitudes on spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in background soils. the Tibetan Plateau. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 22. n. 14. p. 10890–10901. 2015.
- HINDERSMANN. B.; ACHTEN. C. Urban soils impacted by tailings from coal mining: PAH source identification by 59 PAHs. BPCA and alkylated PAHs. **Environmental Pollution**. v. 242. p. 1217–1225. 2018.
- HONG. Y. et al. A comprehensive study of the impact of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contamination on salt marsh plants *Spartina alterniflora*: implication for plant-microbe interactions in phytoremediation. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 22. n. 9. p. 7071–7081. 2015.
- HUANG. R. et al. Underestimated PAH accumulation potential of blue carbon vegetation: Evidence from sedimentary records of saltmarsh and mangrove in Yueqing Bay. China. **Science of The Total Environment**. p. 152887. 2022.
- JIA. H. et al. The remediation of PAH contaminated sediment with mangrove plant and its derived biochars. **Journal of environmental management**. v. 268. p. 110410. 2020.
- JUVANCZ. Z. et al. Study of endocrine disrupting chemicals in environment. **Acta Polytechnica Hungarica**. v. 5. n. 3. 2008.
- KARLSSON. K.; VIKLANDER. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in water and sediment from gully pots. **Water, air, and soil pollution**. v. 188. n. 1. p. 271–282. 2008.
- KARP. G. **Biologia celular e molecular**. [s.l.] Editora Manole Ltda. 2005.
- KATHIRESAN. K.; BINGHAM. B. L. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. 2001.
- KATIYAR. S.; AGARWAL. R.; MUKHTAR. H. Introduction: sources. occurrence. nomenclature. and carcinogenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. In: **Hand Book of Chromatography**. [s.l.] CRC Press Boca Raton. FL. 1993. p. 1–17.
- KIM. A. et al. PAH. PCB. TPH and mercury in surface sediments of the Delaware River Estuary and Delmarva Peninsula. USA. **Marine pollution bulletin**. v. 129. n. 2. p. 835–845. 2018.
- KIRMAN. Z. D. et al. Composition and depth distribution of hydrocarbons in Barataria Bay marsh sediments after the Deepwater Horizon oil spill. **Environmental Pollution**. v. 214. p. 101–113. 2016.
- KOMILIS. D. P.; TZIOUVARAS. I. S. A statistical analysis to assess the maturity and stability of six composts. **Waste Management**. v. 29. n. 5. p. 1504–1513. 2009.

- KOROLEFF. F. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. **Information on techniques and methods for seawater analysis**. p. 19–22. 1970.
- KOTTUPARAMBIL. S.; AGUSTI. S. Cell-by-cell estimation of PAH sorption and subsequent toxicity in marine phytoplankton. **Chemosphere**. v. 259. p. 127487. 2020.
- KUBINCOVÁ. P. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and endocrine disruption: role of testicular gap junctional intercellular communication and connexins. **Toxicological Sciences**. v. 169. n. 1. p. 70–83. 2019.
- KUBITZ. J. A.; BESSER. J. M.; GIESY. J. P. A two-step experimental design for a sediment bioassay using growth of the amphipod *Hyaella azteca* for the test end point. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**. v. 15. n. 10. p. 1783–1792. 1996.
- LABRE. J. C. C. et al. Testes ecotoxicológicos baseados na exposição de anelídeos e sementes de alface através da adição de diferentes concentrações de surfactantes ao solo. **Holos Environment**. v. 8. n. 2. 2008.
- LACERDA. L. D.; FREIXO. J. L.; COELHO. S. M. The effect of *Spartina alterniflora* Loisel on trace metals accumulation in inter-tidal sediments. **Mangroves and Salt Marshes**. v. 1. n. 4. p. 201–209. 1997.
- LAMPARELLI. M. et al. Sistema estuarino de Santos e São Vicente Relatório Técnico CETESB São Paulo 183p. 2001.
- LANÇAS. F. M. Extração em fase sólida (SPE). In: **Extração em fase sólida (SPE)**. [s.l.: s.n.]. p. 93–93.
- LERDA. D. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) factsheet. **Belgium. Joint Research Centre. European Commission**. p. 34. 2011.
- LI. F. et al. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments and plants of mangrove swamps in Shenzhen, China. **Marine pollution bulletin**. v. 85. n. 2. p. 590–596. 2014.
- LIN. Q. et al. The dose-response relationship between No. 2 fuel oil and the growth of the salt marsh grass, *Spartina alterniflora*. **Marine pollution bulletin**. v. 44. n. 9. p. 897–902. 2002.
- LIN. Q.; MENDELSSOHN. I. A. Impacts and recovery of the Deepwater Horizon oil spill on vegetation structure and function of coastal salt marshes in the northern Gulf of Mexico. **Environmental science & technology**. v. 46. n. 7. p. 3737–3743. 2012.
- LINDAU. C. et al. Response of *Spartina alterniflora* vegetation to oiling and burning of applied oil. **Marine Pollution Bulletin**. v. 38. n. 12. p. 1216–1220. 1999.
- LYNCH. J.; WISEMAN. A.; DE LEIJ. F. Ecotoxicology. 2001.
- MACIAS-ZAMORA. J.; MENDOZA-VEGA. E.; VILLAESCUSA-CELAYA. J. PAHs composition of surface marine sediments: a comparison to potential local sources in Todos Santos Bay, BC, Mexico. **Chemosphere**. v. 46. n. 3. p. 459–468. 2002.

- MACIEL, D. C. et al. Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in an urbanized tropical estuary and adjacent shelf. Northeast of Brazil. **Marine pollution bulletin**. v. 101. n. 1. p. 429–433. 2015.
- MAHUGIJA. J. A.; AHMED. K. N.; MAKAME. Y. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contamination in coastal mangrove ecosystems of the Zanzibar archipelago. **Western Indian Ocean Journal of Marine Science**. v. 16. n. 1. p. 25–34. 2017.
- MARTINS. C. DE C. **Marcadores orgânicos geoquímicos em testemunhos de sedimento do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente. SP: um registro histórico da introdução de hidrocarbonetos no ambiente marinho**. Doutorado em Oceanografia Química e Geológica—São Paulo: Universidade de São Paulo. 11 mar. 2005.
- MEDEIROS. P. M.; CARUSO BÍCEGO. M. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos. SP—Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. v. 49. n. 9–10. p. 761–769. nov. 2004.
- MELNYK. A. et al. Concentration and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in surface soil near a municipal solid waste (MSW) landfill. **Science of the Total Environment**. v. 530. p. 18–27. 2015.
- MELO. S. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos: adequação de metodologia para o anfípodo escavador *Tiburonella viscana*. **Master of Science Dissertation. Universidade de São Paulo. São Carlos. SP**. 1993.
- MELO. S.; ABESSA. D. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos. **Métodos em ecotoxicologia marinha: Aplicações no Brasil**. p. 163–178. 2002.
- MIURA. K. et al. Seasonal and annual changes in PAH concentrations in a remote site in the Pacific Ocean. **Scientific reports**. v. 9. n. 1. p. 1–10. 2019.
- MONTAGNOLLI. R. N.; LOPES. P. R. M.; BIDOIA. E. D. Assessing Bacillus subtilis biosurfactant effects on the biodegradation of petroleum products. **Environmental monitoring and assessment**. v. 187. n. 1. p. 1–17. 2015.
- MOREIRA. I. T. et al. Phytoremediation in mangrove sediments impacted by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's) using Avicenniaschaueriana. **Marine pollution bulletin**. v. 67. n. 1–2. p. 130–136. 2013.
- MUSCO. M. et al. Benthic Foraminifera as bio-indicators of anthropogenic impacts in coastal environments: Acquadei Corsari area case study (Palermo. Italy). **Marine pollution bulletin**. v. 117. n. 1–2. p. 75–87. 2017.
- NA. M. et al. IMPACT OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS ON MALE REPRODUCTIVE HEALTH IN COAL TAR WORKERS. **Egyptian Journal of Occupational Medicine**. v. 44. n. 1. p. 499–512. 2020.
- NEVES, D. e SOUSA R. Revolução Industrial. **Brasil Escola Online**. Acesso em 10-05-2021. Disponível em: <<https://brasilecola.uol.com.br/historiag/revolucao-industrial.htm#:~:text=A%20Revolu%C3%A7%C3%A3o%20Industrial%20foi%20o,processo%20de%20forma%C3%A7%C3%A3o%20do%20capitalismo.>>>

NISHIGIMA. F. Aplicação da HPLC na purificação dos extratos de hidrocarbonetos de sedimentos de Santos and Cananéia. São Paulo. Brazil. **Disertacao de Mestrado Instituto Oceanográfico da USP**. 1999.

NISHIGIMA. F. N.; WEBER. R. R.; BÍCEGO. M. C. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of Santos and Cananéia. SP. Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. v. 42. n. 11. p. 1064–1072. 2001.

OBRIST. D.; ZIELINSKA. B.; PERLINGER. J. A. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and oxygenated PAHs (OPAHs) in organic and mineral soil horizons from four US remote forests. **Chemosphere**. v. 134. p. 98–105. 2015.

OLLIVON. D.; BLANCHARD. M.; GARBAN. B. PAH fluctuations in rivers in the Paris region (France): impact of floods and rainy events. **Water. Air. and Soil Pollution**. v. 115. n. 1. p. 429–444. 1999.

PERALTA-ZAMORA. P.; MORAIS. J. L. DE; NAGATA. N. Por que otimização multivariada? **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 10. n. 2. p. 106–110. 2005.

PEREIRA NETTO. A. D. et al. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química nova**. v. 23. p. 765–773. 2000.

PERINA. F. C. et al. Sediment quality assessment of the tributaries of the Santos–São Vicente Estuarine System–Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**. v. 13. n. 2. p. 25–38. 2018.

PEZESHKI. S. et al. The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review. **Environmental pollution**. v. 108. n. 2. p. 129–139. 2000.

PIES. C. et al. Characterization and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in river bank soils. **Chemosphere**. v. 72. n. 10. p. 1594–1601. 2008.

RAMDINE. G. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment and oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from mangrove of Guadeloupe: levels, bioavailability, and effects. **Ecotoxicology and environmental safety**. v. 79. p. 80–89. 2012.

RAMIREZ. D.; DUSSAN. J. Landfarmed oil sludge as a carbon source for *Canavalia ensiformis* during phytoremediation. **International Journal of Environmental Science and Technology**. v. 11. n. 5. p. 1197–1206. 2014.

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

READMAN. J. W. et al. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. **Marine Pollution Bulletin**. v. 44. n. 1. p. 48–62. jan. 2002.

REISH. D. J.; BARNARD. J. L. Amphipods (Arthropoda: Crustacea: Amphipoda). In: **Pollution ecology of estuarine invertebrates**. [s.l.] Elsevier. 1979. p. 345–370.

- RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**. v. 27. n. 5. p. 771–780. 2004.
- ROBERTO, J.; LEE, W.-Y.; CAMPOS-DÍAZ, S. I. Soil-borne polycyclic aromatic hydrocarbons in El Paso, Texas: analysis of a potential problem in the United States/Mexico border region. **Journal of Hazardous Materials**. v. 163. n. 2–3. p. 946–958. 2009.
- ROSLUND, M. I. et al. Endocrine disruption and commensal bacteria alteration associated with gaseous and soil PAH contamination among daycare children. **Environment international**. v. 130. p. 104894. 2019.
- RUMNEY, H. S.; BOLAM, S. G.; LAW, R. J. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments at dredged material disposal sites around England: Concentrations in 2013 and time trend information at selected sites 2008–2013. **Marine pollution bulletin**. v. 92. n. 1–2. p. 180–185. 2015.
- SALLA, V.; HARDAWAY, C. J.; SNEDDON, J. Preliminary investigation of *Spartina alterniflora* for phytoextraction of selected heavy metals in soils from Southwest Louisiana. **Microchemical Journal**. v. 97. n. 2. p. 207–212. 2011.
- SANTODONATO, J. Review of the estrogenic and antiestrogenic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons: relationship to carcinogenicity. **Chemosphere**. v. 34. n. 4. p. 835–848. 1997.
- SANTOS, A. G. et al. A simple, comprehensive, and miniaturized solvent extraction method for determination of particulate-phase polycyclic aromatic compounds in air. **Journal of chromatography A**. v. 1435. p. 6–17. 2016.
- SANTOS, M. M. DOS et al. PAHs diagnostic ratios for the distinction of petrogenic and pyrogenic sources: applicability in the Upper Iguassu Watershed-Parana, Brazil. **Rbrh**. v. 22. 2017.
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Grupo de ecossistemas: manguezal, marisma e apicum. **São Paulo**. 1999.
- SILVA, C. D. L. Estudo da distribuição de HPAs nos sedimentos de fundo da Baía do Guarujá, Porto de Miramar, Belém (PA). Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Geologia do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará. 14+11+2012
- SISINNO, C. L. et al. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em resíduos sólidos industriais: uma avaliação preliminar do risco potencial de contaminação ambiental e humana em áreas de disposição de resíduos. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 19. p. 671–676. 2003.
- SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. IDRC/IMTA. Canadá. Capítulo**. v. 4. p. 71–79. 2004.

SOUSA. R. História dos Combustíveis. **Brasil Escola online**. Acesso em: 10-05-2021. Disponível em: < Nos primeiros anos do século XX, a popularização dos automóveis ampliou ainda mais a demanda internacional por combustíveis de alto desempenho. Dessa forma, os combustíveis fósseis (então somente empregados na obtenção do querosene) passaram a ser>

SOUZA. M. R. et al. Concentration, distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Poxim River sediments. Brazil. **Marine pollution bulletin**. v. 127. p. 478–483. 2018.

SUGAUARA. L. E. Influência da fuligem da queima de palha de cana-de-açúcar na presença de HPA em hortaliças de consumo humano. 2014.

SUKHDHANE. K. et al. Sources, distribution and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the mangrove sediments of Thane Creek. Maharashtra, India. **Environmental monitoring and assessment**. v. 187. n. 5. p. 1–14. 2015.

SUN. L. et al. Evaluation of heavy metal and polycyclic aromatic hydrocarbons accumulation in plants from typical industrial sites: potential candidate in phytoremediation for co-contamination. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 21. n. 21. p. 12494–12504. 2014.

SYED. J. H. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Chinese forest soils: profile composition, spatial variations and source apportionment. **Scientific reports**. v. 7. n. 1. p. 1–10. 2017.

SYED. S. et al. Invasive *Spartina alterniflora* in controlled cultivation: environmental implications of converging future technologies. **Ecological Indicators**. v. 130. p. 108027. 2021.

TAM. N. et al. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. **Environmental Pollution**. v. 114. n. 2. p. 255–263. 2001.

THAMES, A. C. M. Projeto de lei n. 7.927 de 2017. Consultado em: 10-05-2020. Disponível em: <camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?Ocodteor=1575388

THIER. H.-P.; ZEUMER. H. Manual of pesticide residue analysis. 1987.

TIWARI. M.; SAHU. S.; PANDIT. G. Distribution of PAHs in different compartment of creek ecosystem: Ecotoxicological concern and human health risk. **Environmental toxicology and pharmacology**. v. 50. p. 58–66. 2017.

TOBISZEWSKI. M.; NAMIEŚNIK. J. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. **Environmental pollution**. v. 162. p. 110–119. 2012.

TOMASETIG. F. et al. Comparative genotoxic potential of 27 polycyclic aromatic hydrocarbons in three human cell lines. **Toxicology letters**. v. 326. p. 99–105. 2020.

TORRES. R. J. et al. Effects of dredging operations on sediment quality: contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos. SP. Brazil. **Journal of soils and sediments**. v. 9. n. 5. p. 420–432. 2009.

- VELHO. A. M. A. et al. Preliminary study by environmental indicator measurements of sediments in a mangrove forest in Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. **Journal of Environmental Protection**. v. 3. n. 8. p. 731–739. 2012.
- VENTURINI. N. et al. Characterization of the benthic environment of a coastal area adjacent to an oil refinery, Todos os Santos Bay (NE-Brazil). **Brazilian Journal of Oceanography**. v. 52. p. 123–134. 2004.
- VENTURINI. N.; MUNIZ. P.; RODRIGUEZ. M. Macro-benthic subtidal communities in relation to sediment pollution: the phylum-level meta-analysis approach in a south-eastern coastal region of South America. **Marine Biology**. v. 144. n. 1. p. 119–126. 2004.
- VENTURINI. N.; TOMMASI. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons and changes in the trophic structure of polychaete assemblages in sediments of Todosos Santos Bay, Northeastern. Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. v. 48. n. 1–2. p. 97–107. 2004.
- VERÂNE. J. et al. Phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments using *Rhizophora mangle*. **Marine Pollution Bulletin**. v. 160. p. 111687. 2020.
- VIANA. F. V. Acumulação de HPAs pela *spartina alterniflora* cultivada em solo de landfarming de indústria petroquímica. 2008.
- VIGLIO. J. E. et al. NOT ALL GLITTERS IN THE BLACK GOLD: UNCERTAINTIES AND ENVIRONMENTAL THREATS OF THE BRAZILIAN PRE-SALT1. **Ambiente & Sociedade**. v. 20. p. 21–38. 2017.
- VILLAR-VIDAL. M. et al. Air Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) associated with PM_{2.5} in a North Cantabric coast urban environment. **Chemosphere**. v. 99. p. 233–238. 2014.
- WANG. C. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from urban to rural areas in Nanjing: concentration, source, spatial distribution, and potential human health risk. **Science of the Total Environment**. v. 527. p. 375–383. 2015a.
- WANG. Q. et al. Studies on size distribution and health risk of 37 species of polycyclic aromatic hydrocarbons associated with fine particulate matter collected in the atmosphere of a suburban area of Shanghai city, China. **Environmental Pollution**. v. 214. p. 149–160. 2016.
- WANG. Y. et al. Genotypic responses of bacterial community structure to a mixture of wastewater-borne PAHs and PBDEs in constructed mangrove microcosms. **Journal of hazardous materials**. v. 298. p. 91–101. 2015b.
- WANG. Y.-C. et al. Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbon uptake pathways and risk assessment of vegetables from waste-water irrigated areas in northern China. **Journal of Environmental Monitoring**. v. 13. n. 2. p. 433–439. 2011.
- WANG. Z. et al. Distribution of PAHs in tissues of wetland plants and the surrounding sediments in the Chongming wetland, Shanghai, China. **Chemosphere**. v. 89. n. 3. p. 221–227. 2012.

- WISEMAN, A.; GOLDFARB, P. S. Biomonitoring,ecoextrapolation and then bioremediation for ecorestoration? **TRENDS in Biotechnology**. v. 19. n. 1. p. 7–8. 2001.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans.**Agents Classified by the IARC Monographs**. p. 1–125. 2020.
- XIE, R. et al. Heavy metal accumulation affected by *Spartina alterniflora* invasion in estuarine wetland sediments.**Journal of Natural Resources**. v. 35. n. 5. p. 05001238. 2020.
- YANG, Y. et al. Characterization of bacterial communities associated with the exotic and heavy metal tolerant wetland plant *Spartina alterniflora*.**Scientific reports**. v. 10. n. 1. p. 1–11. 2020.
- YOON, S. J. et al. Distributions of persistent organic contaminants in sediments and their potential impact on macrobenthic faunal community of the Geum River Estuary and Saemangeum Coast,Korea.**Chemosphere**. v. 173. p. 216–226. 2017.
- YUNKER, M. B. et al. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition.**Organic geochemistry**. v. 33. n. 4. p. 489–515. 2002.
- ŽALTAUSKAITĖ, J.; ČYPAITĖ, A. Assessment of landfill leachate toxicity using higher plants.**Environmental Research. Engineering & Management**. v. 46. n. 4. 2008.
- ZANARDI-LAMARDO, E. et al.Distribution and sources of organic contaminants in surface sediments of Hooghly river estuary and Sundarban mangrove. eastern coast of India.**Marine pollution bulletin**. v. 146. p. 39–49. 2019.
- ZHANG, J. et al. Distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in Bank soils and river sediments from the middle reaches of the HuaiheRiver.China.**CLEAN–Soil. Air. Water**. v. 43. n. 8. p. 1207–1214. 2015.