

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁREA COSTEIRA DA REGIÃO DE CARAGUATATUBA UTILIZANDO CONCHAS DE ORGANISMOS BIVALVES

**José Henrique de Paula¹, Marília Gabriela Miranda Catharino¹, Carolina Yume
Sawamura Theophilo¹, Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa², Marcia Regina
Gaspario², Claudio Gomes Lins² e Paulo Sergio Cardoso da Silva¹**

¹ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP, Brazil
josehenrique3232@hotmail.com
mariliasesteller@uol.com.br
carolina.theophilo@gmail.com
psscilva@ipen.br

²Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO/USP)
Praça do Oceanográfico, 191 - CEP: 05508-120
Cidade Universitária, São Paulo (SP) – Brasil
margasparoto@gmail.com
edvinett@usp.br
claudiolins@hotmail.com

RESUMO

O processo desordenado da industrialização originou graves problemas de poluição para o meio aquático. Inúmeros episódios de contaminação de regiões costeiras, ocorridos no mundo todo, levaram muitos países a estabelecer extensos programas de monitoração, que incluem análises de águas, sedimentos e organismos marinhos, para diversos contaminantes orgânicos e inorgânicos. As concentrações de substâncias potencialmente tóxicas em água do mar são extremamente baixas e consideravelmente diversificadas no espaço e no tempo, tornando assim suas determinações complexas. O presente trabalho consiste em avaliar a exposição, os efeitos e a bioacumulação de contaminantes em conchas de mexilhões *Perna perna* e vôngole *Anomalocardia brasiliana* nativos, por um período de um ano (4 estações) em Praias de Caraguatatuba pela avaliação da bioacumulação sazonal dos seguintes elementos: As, Co, Cr, Fe, Se e Zn pelo métodos de análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA), Cd e Pb chumbo por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF-AAS) e Hg, por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV-AAS).

1. Introdução

O processo desordenado da industrialização originou graves problemas de poluição para o meio aquático. As áreas costeiras são muito utilizadas para a disposição de efluentes urbanos e industriais, sem o devido tratamento, acarretando a contaminação das águas e da vida marinha por diversos poluentes. Pode-se verificar, mundialmente, o aumento nos níveis desses contaminantes, e essa constatação tem levado à formulação de estratégias para diminuir o

impacto causado nesses ecossistemas. O grau de poluição desses ambientes pode colocar em risco a saúde das populações ribeirinhas que utilizam essas águas tanto para a pesca quanto para o lazer (MAIA; ALMEIDA; MOREIRA, 2006).

Os biomarcadores, em conjunto com análises químicas, têm sido utilizados em um número cada vez maior de estudos ambientais sendo fundamentais para que possam ser tomadas medidas mitigadoras e de proteção a estes ambientes (FREIRE et al., 2008; DA ROS et al., 2011).

2. Objetivo

O objetivo do trabalho consiste em avaliar a exposição, os efeitos e a bioacumulação de contaminantes em conchas de mexilhões *Perna perna* e vôngole *Anomalocardia brasiliana* nativos por um período de um ano (4 estações) em Praias de Caraguatatuba pela avaliação da bioacumulação sazonal dos seguintes elementos: As, Cd, Co, Cr, Fe, Hg, Pb, Se e Zn, pelos métodos de análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA) e espectrometria de absorção atômica (CV-AAS).

3. Metodologia

3.1. Pré-Tratamento das Amostras

Uma vez que muitas amostras desses organismos podem ser encontradas enterradas ou recobertas por outros materiais não pertencentes à matriz carbonática, estes podem afetar as medidas (HIGHAM et al., 2007) e, portanto, devem ser eliminados. O procedimento adotado promoveu a remoção de quaisquer impurezas exteriores bem como de carbonato recente adsorvido para obtenção de apenas carbonato primário. Para amostras de conchas os métodos utilizados são baseados na lavagem da amostra com ácidos. Primeiramente foi feita a remoção manual de contaminantes com auxílio de pinças e lixas e em seguida a lavagem da amostra em HCl 4% por um curto intervalo de tempo, entre 1 e 2 minutos. Em seguida foi realizado a lavagem da concha até obtenção de resíduo com pH 6,5, para os procedimentos de secagem, moagem a uma granulometria de 100 mesh e peneiramento.

3.2. Análise por Ativação Neutrônica

A análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI) é um método de análise não destrutivo e multielementar (podendo-se determinar uma série de elementos em uma amostra: As, Ba, Br, Ce, Cl, Cs, Co, Cr, Cu, Eu, Fe, Hf, K, La, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, Ti, U, V, Yb, Zn e Zr. Esta técnica consiste no bombardeamento de um dado material seguido da medida da radioatividade induzida. Neste processo a amostra é primeiramente exposta a um fluxo de nêutrons, geralmente produzido por um reator nuclear de pesquisa. Dependendo da intensidade deste fluxo e da seção de choque do elemento o núcleo alvo sofre uma reação nuclear (n, γ) resultando em um núcleo em estado excitado que irá decair pela emissão de um fóton gama pronto (emitido no instante da reação) para uma configuração mais estável. Esta configuração é, geralmente, um núcleo radioativo que, por sua vez, irá decair pela emissão de um fóton gama atrasado com meia vida $T_{1/2}$ e energia de emissão gama características. Em geral, a irradiação é feita com nêutrons térmicos e a radioatividade resultante é medida usando-se a espectrometria dos raios gama emitidos pelos radioisótopos formados (GREENBERG; BODE; DE NADAI FERNANDES, 2011).

A espectrometria de raios gama é feita primariamente por um detector de radiação gama que consiste de um sistema contendo um cristal de germânio hiper puro em alto vácuo, refrigerado à temperatura do nitrogênio líquido e um pré-amplificador de baixo ruído. Estes detectores são sensíveis a uma ampla faixa de energias gama e apresentam alta eficiência e resolução.

A concentração é obtida pela comparação de áreas de picos, obtidos no espectro gama da amostra irradiada, com padrões que são analisados juntamente com as amostras. Esta medida consiste na contagem feita pelo detector do número de desintegrações sofridas por um determinado nuclídeo em um dado período de tempo. Este número é proporcional à quantidade de núcleos estáveis do isótopo a ser determinado presente na amostra. O cálculo é feito utilizando-se a seguinte expressão:

$$C_{ai} = \frac{(A_{ai} m_p C_{pi}) e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_{pi} m_a}$$

onde:

C_{ai} : concentração do elemento i na amostra

C_{pi} : Concentração do elemento i no padrão

A_{ai} : Atividade do elemento i na amostra

A_{pi} : Atividade do elemento i no padrão

M_a e m_p : massas da amostra e do padrão, respectivamente

λ : Constante de decaimento do radioisótopo

t_a e t_p : tempo de resfriamento da amostra e padrão, respectivamente

O tempo de irradiação das amostras depende dos elementos que se deseja analisar, no caso dos elementos citados as amostras são irradiadas por períodos variando de 20 segundos a 8 horas, sob um fluxo de nêutrons de $10^{12} n \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. A contagem da atividade gama induzida será feita após um período de resfriamento que depende da meia-vida do isótopo formado.

As amostras de conchas limpas e moídas conforme especificado no item 5.2 foram embaladas em saco de polietileno, previamente descontaminados com solução HNO_3 0,2 mol L^{-1} , e posteriormente irradiadas juntamente com materiais de referência certificados. Após a irradiação, as amostras foram contadas em detectores de Ge-Hiperpuros para determinação das concentrações desejadas.

Para o controle de qualidade dos resultados obtidos pela técnica de AAN, utiliza-se o critério de Z-score (Bode, 1996). O cálculo da diferença padronizada ou de um valor Z de um resultado analítico é dado pela equação abaixo:

$$Z = \frac{C_i - C_{ref,i}}{(\sigma_i^2 + \sigma_{ref,i}^2)^{1/2}}$$

onde:

C_i = concentração do elemento i determinado no material de referência;

$C_{ref,i}$ = valor certificado de concentração ou de consenso para o elemento i;

σ_i = incerteza da concentração do elemento i na análise do material de referência;

$\sigma_{ref, i}$ = incerteza do valor de consenso ou certificado para o elemento i .

Considera-se para a técnica de AAN que um resultado é aprovado quando os valores de Z satisfazem a condição $z < |3|$. Esta condição garante que um resultado individual da amostra controle (material de referência) esta dentro do intervalo de confiança de 99% do valor verdadeiro ou aceito.

3.3. Espectrometria de Absorção Atômica com forno de grafite – GF-AAS

A análise pela técnica de espectrometria de absorção atômica teve por objetivo a determinação da concentração de Cd, Cu e Pb nas amostras.

A espectrometria de absorção atômica é um método sensível para a determinação quantitativa de mais de 60 elementos, a partir da medida da intensidade da radiação transmitida convertida em um sinal analítico por um detector.

Em Espectrometria de Absorção Atômica, a amostra é exposta à radiação de comprimentos de onda específicos emitida por uma lâmpada, cujas energias dos fótons emitidos são exatamente as mesmas que podem ser absorvidas pelos átomos livres do elemento de interesse. Existe uma lâmpada para cada elemento que se deseja determinar. A luz dirigida através da nuvem do elemento atomizado em uma chama ou cubeta de forno de grafite passa por um monocromador até atingir o detector. A quantidade de energia absorvida naquele comprimento de onda específico é diretamente proporcional à concentração do elemento na amostra.

Existem diferentes técnicas empregadas para a quantificação de qualquer elemento metálico usando-se as absorções características dos átomos. As principais diferenças entre as técnicas se originam dos processos de atomização, capazes de converter o analito em átomos livres. Um tipo comum de atomizador é o forno de grafite (aquecimento eletrotérmico), que apresenta alta sensibilidade, podendo determinar metais ao nível de ppb e ppt. A alta sensibilidade é devida à capacidade de gerar átomos rapidamente e mantê-los no caminho óptico por mais tempo. As temperaturas no forno de grafite por indução atingem de 2000 a 3000°C, proporcionando a atomização completa da amostra.

Para as análises, cerca de 300 mg de amostra foram pesados e, após digestão com ácidos, as amostras foram analisadas no equipamento de GFAAS modelo AAnalyst 800 da Perkin Elmer do Laboratório de Absorção Atômica do LAN/IPEN-SP. Antes da determinação nas amostras, foram preparadas soluções de Cd, Cu e Pb a partir de soluções estoque destes mesmos elementos e de solução de HNO₃ 0,2% (v/v) (Merck), usado como diluente, para construção da curva de calibração do equipamento. Este equipamento é acompanhado do programa Winlab 32 para AAS versão 6.2.0.0079 (Perkin Elmer) para a construção da curva analítica e leitura das amostras. A concentração do analito foi determinada a partir da área do pico de absorção utilizando-se o modo de regressão linear para o ajuste da curva. A linearidade das curvas de calibração pode ser checada tanto de forma visual no momento das medidas, como também pelo coeficiente de correlação linear das curvas (r). Para verificação da confiabilidade dos resultados na determinação de Cd, Cu e Pb por GFAAS foram utilizados os materiais de referência certificados.

3.4. Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio – CV-AAS

Para a realização do método para a quantificação de Hg por CV AAS, foram utilizadas as mesmas soluções obtidas na dissolução das amostras para determinação de Cd, Pb e Cu. Para verificação da confiabilidade dos resultados na determinação de Hg por CV-AAS foram utilizados os materiais de referência certificados.

4. Resultados e Discussão

Os Resultados obtidos até o momento são da estação inverno e estão ilustrados na tabela 1 e na tabela 2.

Tabela 1: Resultados obtidos através da Análise por Ativação Neutrônica – NAA.

	Amostras	As, ug/g	Co, ug/	Fe(%)	Se, ug/g	Zn, ug/g	Cr, ug/g
1	COA	<0,04	<0,04	<4	<0,04	5,7 ± 0,5	<0,07
2	COB	<0,04	<0,04	16 ± 4	<0,04	1,9 ± 0,3	<0,07
3	NIA	<0,04	<0,04	<4	0,07 ± 0,03	7 ± 0,4	0,14 ± 0,06
4	NIB	<0,04	<0,04	<4	<0,04	5,7 ± 0,37	0,6 ± 0,2
5	AIA	<0,04	0,03 ± 0,01	<4	<0,04	<3	<0,07
6	AIB	<0,04	<0,006	32 ± 7	<0,04	6,6 ± 0,6	0,6 ± 0,2
7	FLA	<0,04	<0,006	<4	<0,04	7,5 ± 0,5	<0,07
8	FLB	<0,04	<0,006	<4	<0,04	4,6 ± 0,5	0,4 ± 0,2
9	CAA	<0,04	0,0305 ± 0,009	0,0026 ± 0,0003	<0,04	5,2 ± 0,2	0,7 ± 0,1
10	CAB	<0,04	0,09 ± 0,01	0,0038 ± 0,0003	0,0133 ± 0,264	8,0 ± 0,4	0,5 ± 0,1
11	CEA	<0,04	<0,006	<4	<0,04	6,6 ± 0,6	<0,07
12	CEB	<0,04	<0,006	54 ± 13	<0,04	7,9 ± 0,6	<0,07

Tabela 2: Resultados obtidos pelas análises de Espectrometria de Absorção Atômica com forno de grafite – GF-AAS e Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio – CV-AAS.

	Amostras	Hg, ng	Cu, ng	Cd, ng	Pb, ng
1	COA	45,2 ± 0,45	1076 ± 31	28,07 ± 0,01	922 ± 705
2	COB	16 ± 0,40	944 ± 35	33,04 ± 0,02	423 ± 2
3	NIA	20,7 ± 0,65	812 ± 13	35,3 ± 0,5	699 ± 24
4	NIB	15,2 ± 0,43	769 ± 11	27,1 ± 0,1	739 ± 18
5	AIA	38,1 ± 0,44	769 ± 762	47,69 ± 0,58	458 ± 5
6	AIB	27 ± 1,0	812 ± 15	35,5 ± 0,8	716 ± 6
7	FLA	19 ± 2	699 ± 24	6,264 ± 0,988	307 ± 6
8	FLB	22 ± 3	697 ± 11	4,846 ± 0,252	221 ± 14
9	CAA	28,7 ± 0,3	590 ± 6	3,367 ± 0,242	801 ± 10
10	CAB	21 ± 1	505 ± 2	2,702 ± 0,753	418,8 ± 0,4
11	CEA	3,71 ± 0,02	454 ± 12	1,981 ± 0,219	270 ± 2
12	CEB	7 ± 2	546 ± 3	19,4 ± 0,5	160 ± 27
13	INA	16,37 ± 0,06	693 ± 51	27,2 ± 0,8	831 ± 21
14	INB	28,3 ± 0,85	900 ± 23	35 ± 1	1618 ± 50

Os valores médios obtidos das amostras de vongoles não tiveram uma grande discrepância entre elas, sendo assim os elementos analisados nas conchas de vongoles ficaram com uma boa media assim como as amostras de mexilhão que ficaram com valores aproximados entre si.

Já em comparação entre as duas espécies de conchas, há uma diferença considerável, sendo para os elementos As, Co, Fe, Se e Zn as amostras de mexilhão tiveram um teor menor desses elementos. Com os elementos Hg, Cu, Cd e Pb, o menor teor encontrado foram nas conchas de vongoles em relação as conchas de mexilhão.

5. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que nas conchas de vôngoles o teor dos elementos As, Co, Fe, Se e Zn é maior do que o das conchas de mexilhão portanto potencializando seu efeito de bioacumulação de contaminantes na região. Para os elementos Hg, Cu, Cd e Pb, o teor encontrado nas conchas de mexilhão é maior do que comparado as conchas de vôngoles, sendo assim seus efeitos maiores e com mais bioacumulação nas conchas de mexilhão.

Agradecimentos

This template was adapted from the template for the American Nuclear Society Topical Meeting in Mathematics & Computations, Gatlinburg, TN, 2003 posted on the Internet. Acknowledge the help of colleagues, and sources of funding, if you wish.

Referências

- [1] ALFONSO, J. A. et al. Temporal distribution of heavy metal concentrations in oysters *Crassostrea rhizophorae* from the central Venezuelan coast. *Marine Pollution Bulletin*, v. 73, n. 1, p. 394–398, 2013.
- [2] ANADÓN, P. et al. The geochemistry of biogenic carbonates as a paleoenvironmental tool for the Lower Pleistocene Barranco León sequence (BL-5D, Baza Basin, Spain). *Quaternary International*, v. 389, p. 70–83, 2015.
- [3] CARRIKER, M. R. et al. Interaction of mineral elements in sea water and shell of oysters (*Crassostrea virginica* (Gmelin)) cultured in controlled and natural systems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 46, n. 2, p. 279–296, 1980.
- [4] CETESB. Balneabilidade das Praias Paulistas - 2001.
- [5] CETESB. Qualidade das praias litorâneas. p. 215, 2013.
- [6] DA ROS, L. et al. An ecotoxicological approach for the Boka Kotorska Bay (south-eastern Adriatic Sea): First evaluation of lysosomal responses and metallothionein induction in mussels. *Marine Pollution Bulletin*, v. 63, n. 5–12, p. 326–333, 2011.
- [7] EINAX, J. W.; SOLDT, U. Geostatistical and multivariate statistical methods for the assessment of polluted soils—merits and limitations. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 46, p. 79–91, 1999.
- [8] FREIRE, M. M. et al. Biomarcadores Na Avaliação Da Saúde Ambiental Dos Ecossistemas Aquáticos. *Oecologia Australis*, v. 12, n. 03, p. 347–354, 2008.
- [9] GIL, M. N. et al. Assessment of recent sediment influence in an urban polluted subantarctic coastal ecosystem. Beagle Channel (Southern Argentina). *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, n. 1, p. 201–207, 2011.
- [10] GREENBERG, R. R.; BODE, P.; DE NADAI FERNANDES, E. A. Neutron activation analysis: A primary method of measurement. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, v. 66, n. 3–4, p. 193–241, 2011.
- [11] HIGHAM, T. F. G. et al. Radiocarbon dating of charcoal from tropical sequences: results from the Niah Great Cave, Sarawak, and their broader implications. *Journal of Quaternary Science*, v. 22, n. 8, p. 801–815, 2007.
- [12] JOÃO LIMA SANT ANNA NATO. RITMO CLIMÁTICO E A GÊNESE DAS CHUVAS NA ZONA COSTEIRA DO ESTADO DE SÃO PAULO – BRASIL. [s.l: s.n.].
MAIA, C. B.; ALMEIDA, A. C. M.; MOREIRA, F. R. Avaliação do teor de chumbo em mexilhões da espécie *Perna perna* na região metropolitana da cidade do Rio de Janeiro. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, v. 1, n. 2, p. 195–8, 2006.
- [13] OLIVEIRA, D. E.; FERREIRA, C. DE C. M. GÊNESE E RITMO DA PLUVIOSIDADE NA BACIA DO RIO PRETO MG/RJ: PROPOSTA METODOLÓGICA PARA A

REPRESENTAÇÃO CARTOGRÁFICA. *Revista Brasileira de Climatologia*, v. 21, p. 38–58, 2017.

[14] PALACIOS-FEST, M. R. et al. A paleoenvironmental reconstruction of Laguna Babícora, Chihuahua, Mexico based on ostracode paleoecology and trace element shell chemistry. *Journal of Paleolimnology*, v. 27, n. 2, p. 185–206, 2002.

[15] PEREIRA, C. Integrated biomarker responses as environmental status descriptors of a coastal zone. In: *Ecotoxicology and Environmental Safety*. [s.l: s.n.]. p. 1257–1264.

[16] PIERRI, B. S.; FOSSARI, T. D.; MAGALHÃES, A. R. M. O mexilhão perna perna no Brasil: Nativo ou exótico? *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 68, n. 2, p. 404–414, 2016.

[17] WOLF, K. H., CHILINGAR, G. V., BEALES, F. W. ELEMENTAL COMPOSITION OF CARBONATE SKELETONS, MINERALS, AND SEDIMENTS. [s.l: s.n.].

[18] WRIGHT, D. A. Trace metal and major ion interactions in aquatic animals. *Marine Pollution Bulletin*, v. 31, n. 1–3, p. 8–18, 1995.

[19] WRIGHT, D. A. The effect of salinity on cadmium uptake by the tissues of the shore crab *Carcinus maenas*. *The Journal of Experimental Biology*, v. 67, n. April, p. 137–146, 1977.