

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

PEDRO ASSIS RIBEIRO DE CASTRO

**MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO EM SEDIMENTO DE
MANGUEZAL CONTAMINADO COM HIDROCARBONETOS DE
PETRÓLEO**

**VITÓRIA
2009**

PEDRO ASSIS RIBEIRO DE CASTRO

**MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO EM SEDIMENTO DE
MANGUEZAL CONTAMINADO COM HIDROCARBONETOS DE
PETRÓLEO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Profº. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini.

**VITÓRIA
2009**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

C355m Castro, Pedro Assis Ribeiro de, 1983-
Monitoramento ecotoxicológico em sedimento de manguezal
contaminado com hidrocarbonetos de petróleo / Pedro Assis
Ribeiro de Castro. – 2009.
92 f. : il.

Orientador: Sérgio Túlio Alves Cassini.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito
Santo, Centro Tecnológico.

1. Toxicologia ambiental. 2. Manguezais. 3. Hidrocarbonetos.
4. Petróleo. 5. Sedimentos estuarinos. 6. *Vibrio fischeri*. I.
Cassini, Sérgio Túlio Alves. II. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro Tecnológico. III. Título.

CDU: 628

PEDRO ASSIS RIBEIRO DE CASTRO

**MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO EM SEDIMENTO DE
MANGUEZAL CONTAMINADO COM HIDROCARBONETOS DE
PETRÓLEO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovado em 19 de agosto de 2009.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Charrid Resgalla Junior
Universidade do Vale do Itajaí
Examinador Externo

Prof. Dr. Daniel Rigo
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno

*Dedico este trabalho aos meus pais Alceu (in memoriam) e Teresa,
ao meu irmão Thiago e a minha namorada Renata.*

*“O grão do desejo quando cresce
É arvoredo, floresce
Não tem serra que derrube
Não tem guerra que desmate
Ele pesa sobre a terra
Mais que a lei da gravidade”.*

“Mais que a lei da gravidade” - Paulinho da Viola

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais uma conquista.

A minha 'mãezona', em especial, que sempre lutou muito pelo nosso sucesso, que é a grande responsável por isso tudo. Ao meu pai (*in memoriam*), muitas saudades..., foi o maior pesquisador que conheci, que foi a inspiração de cada dia nestes dois anos e meio do desenvolvimento deste trabalho. Ao meu irmão Thiago, meu melhor amigo, muito obrigado por todos os conselhos! Ao Patrick, meu irmão mais velho, pelo apoio. Obrigado família, razão da minha vida!

Minha namorada (Renata) pela pessoa maravilhosa que tem sido na minha vida, lutamos juntos todos os dias.

Aos meus 'pais' especiais, Renato e Elisa, e aos quase irmãos, Paula, Fernando, Carol e Ana, que sempre me apoiaram muito, em todos os momentos que precisei, tanto financeiramente, quanto moralmente. Os conselhos e incentivos foram fundamentais!

À minha avó Ruth pelo carinho e incentivo, tios, tias, primos e primas, a toda família que sempre me apoiou.

Ao professor Dr. Sérgio Túlio Cassini pela orientação e aos examinadores professor Dr. Charrid Resgalla e ao professor Dr. Daniel Rigo, por aceitarem o convite, pelas observações e correções do trabalho.

À Universidade Federal do Espírito Santo - UFES pelo suporte acadêmico.

À ANP, pela bolsa e pelo apoio financeiro, fundamental para que o trabalho fosse desenvolvido. Assim como o professor coordenador Dr. Edson Soares, que sempre foi muito presente a auxiliar no trabalho, tanto financeiramente quanto moralmente e os professores visitantes Dr. Washington e o Dr. Joel.

Ao IEMA por ceder espaço e doar as bactérias (*Vibrio fischeri*) para realização dos ensaios de ecotoxicologia aguda. Mais precisamente à Msc. Márcia D'isep pela

atenção e também pela amizade. Ao chefe do laboratório Alexandre por conceder esta parceria.

Ao grupo Manguezal, que participou forte no início do projeto, Ariana Arimura, Emilia Brito e Pedro Cassini.

Ao LABPETRO/DQUI-UFES pela doação dos hidrocarbonetos de petróleo, em especial ao professor Dr. Eustáquio de Castro pela atenção e colaboração.

À Dr^a Letícia Zaroni, grande amiga que abriu as portas do Instituto Oceanográfico da USP para que conseguíssemos a doação das algas, além de ter aceitado a proposta de fazer as correções técnicas da dissertação. Também do IO/USP à Marta e demais profissionais que se mobilizaram para doação das algas.

Ao meu amigo Msc. Celson não só pela amizade, mas principalmente por se propor a fazer correções da dissertação, que foram fundamentais na estruturação do trabalho, para que pudesse levar à defesa.

Ao professor amigo Dr. Eduardo Bertoletti da CETESB que também foi decisivo nas correções deste trabalho, muito obrigado.

À Aracruz Celulose por abrir as portas da empresa para o treinamento, manutenção e execução dos ensaios com as microalgas devido à experiência. Em especial aos pesquisadores da empresa Jorge Effigen, Tábita e à Gerente de Laboratório Patrícia.

Ao professor Dr. Ricardo Franci por ceder espaço da ETE para realização do monitoramento do experimento.

Ao Departamento de Ecologia da UFES que abriu as portas para que realizássemos algumas análises em especial ao chefe do departamento o professor Dr. Renato Neto, que também se mostrou muito atencioso e teve importante contribuição para realização deste trabalho.

Ao Eudrades Jr. pela amizade, apoio e fundamental ajuda na idéia para desenvolvimento do trabalho.

Ao laboratório de solos, LEMAC – UFES e ao Miguel que abriu espaço para realização das análises do sedimento.

À PUC-Rio por se solidarizar e realizar as análises de cromatografia. Em especial à ex-colega USU Carla Sette, Dr^a Cássia Oliveira e à chefe do departamento de química Dr^a Ângela Wagener.

À minha sogrinha Rosa e 'sogrão' Soares.

Ao meu grande amigo e meu advogado Lorenzo D'isep. Ainda vamos ganhar muitas causas! Rsrtrs... .

A todos amigos e ex-colegas do LABSAN, Amaury, Catarina, Paula, Juliana, Marcos, Carol's, Caliarí Elaine, Márcia, Dra.Junko e a todos que me perdoem por não lembrar dos nomes. Ainda aos colegas do departamento da Engenharia Ambiental, Giovani, Wesley, Kenedy, Andressa, Kilse, Prússia, Felipe

Às meninas da secretaria, Rose e Penha.

À Cristina que tantas vezes tentou tirar as manchas de óleo do meu jaleco e não conseguiu e demais funcionários.

Ao pessoal da Atol Ambiental; Edvaldo, Andréa, Giuliano, Diego, Foguete e Gabriel.

A toda Aplysia onde iniciei a jornada na ecotoxicologia. Em especial a Tatiana Furley, Helô, Romena, Karina, Josi, Dani, Magno, Alexandre.

A todas as pessoas que cruzaram meu caminho e que contribuíram de alguma forma para que eu alcançasse este objetivo.

RESUMO

Os manguezais são constantemente atingidos por derramamentos de hidrocarbonetos de petróleo, provenientes das crescentes indústrias petroquímicas ou embarcações que transportam estes minerais brutos, ou como produtos derivados, dentre eles os diversos tipos de combustíveis. Por isso, estes ambientes são considerados ecossistemas vulneráveis e os mais sensíveis a derramamento de hidrocarbonetos de petróleo, devido à facilidade de o óleo aderir ao sedimento causando efeitos agudos e crônicos a toda biodiversidade. Sendo assim, uma das formas mais precisas de monitoramento biológico aos impactos antrópicos nos ecossistemas pode ser feitos através dos ensaios ecotoxicológicos agudos e ou crônicos, com organismos que sejam representativos ao ambiente. Com base nisso, para uma avaliação detalhada de um impacto por derrame de petróleo e derivados no manguezal, o presente trabalho buscou desenvolver uma metodologia de monitoramento do sedimento com estes contaminantes em etapa preliminar ocorrida em um mês e definitiva ocorrida em três meses, ambas com diferentes tipos de unidades experimentais (em recipientes Vaso e Lata/PET, respectivamente) fora do seu ambiente natural, por meio de ensaios ecotoxicológicos agudos, com a bactéria *Vibrio fischeri*. Os contaminantes testados foram o petróleo (16,9 °API, pesado) e três frações provenientes deste mesmo hidrocarboneto, com densidades diferentes comparadas a alguns tipos de combustíveis, uma similar ao querosene (fração 2, 40,6 °API, leve), outra similar ao óleo diesel (fração 6, 28 °API, média) e a última similar ao óleo lubrificante (fração 12, 19,4 °API, pesada). A toxicidade aguda apresentou relação com a densidade do óleo, pois foi sempre mais acentuada ao contaminante de grau API mais alto, onde também foi observada uma atenuação maior nos períodos experimentais, principalmente nas primeiras análises. Nos sedimentos contendo a fração 2 como contaminante apresentaram maior toxicidade aguda inicial, tanto para os experimentos preliminares quanto para os experimentos definitivos, de 81,12% e 75,46%, respectivamente.

Palavras chave: Ecotoxicologia, *Vibrio fischeri*, sedimento de manguezal, hidrocarbonetos de petróleo, atenuação natural, unidades experimentais, vaso, Lata/PET.

ABSTRACT

The mangroves are constantly affected by oil spills, petrochemical industries from growing or vessels carrying crude minerals such as derivatives, among them the different types of fuels. Therefore, these environments are considered the most vulnerable ecosystems and sensitive to oil spills, due to the ease of the oil adhere to sediment causing acute and chronic effects to the entire biodiversity. Thus, one of the most accurate biological monitoring of anthropogenic impacts on ecosystems can be made through the ecotoxicological tests acute and/or chronic, with organisms that are representative to the environment. On this basis, for a detailed assessment of an impact by spill of oil and oil products in the mangrove, the present study sought to develop a methodology for monitoring these contaminants in sediment in the preliminary round took place in a month and a final held in three months, both with different types of experimental units (in containers pot and can/PET, respectively) outside its natural environment, through acute ecotoxicological tests with the bacterium *Vibrio fischeri*. The contaminants were tested petroleum (16.9 degrees API and heavy) and three fractions from this same hydrocarbon, with different densities compared to some types of fuel, one similar to kerosene (fraction 2, 40.6 °API, light), a similar diesel oil (fraction 6, 28 °API, medium) and the last similar to the lubricating oil (fraction 12, 19.4 ° API heavy). The acute toxicity was correlated with the density of oil, it always has the highest degree API higher, which was also observed an attenuation higher in experimental periods, especially in the first analysis. Sediments containing fraction 2 as a contaminant had higher initial toxicity, both for the preliminary experiments and for the definitive experiments of 81.12% and 75.46%, respectively.

Key words: Ecotoxicology, *Vibrio fischeri*, sediment of mangrove , hydrocarbons of petroleum, Natural recovery, experimental units, pot, Lata/PET.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Algumas das principais espécies vegetais encontradas no manguezal (1: *Spartina* spp.; 2: *Rhizophora mangle*; 3: *Avicenia schaueriana*; 4: *Laguncularia racemosa*; 5: *Hibiscus tiliaceus*; 6: *Acrosticum aureum*) dentre outras espécies bem características como os caranguejos (7: *Ucides cordatus* , 8 *Uca thayeri*). Modificada pelo autor de Cebimar (2005) apud Ferreira (2006).....22
- Figura 2 - Mapa de uso e ocupação do solo do ano de 2005. Parte da Estação Ecológica Municipal Ilha do Lameirão. Fonte: Tulli (2007).27
- Figura 3 - Composição colorida (RGB) e classificação visual: aerofotos do Canal de Bertioga. 1962 (verde) e 1994 (magenta). Fonte: Santos *et al.*, (2006).31
- Figura 4 - Classes de vulnerabilidade à ação antrópica para a Estação Ecológica. “PONTO DE COLETA” do presente trabalho. Fonte: Tulli (2007) com adaptação. Inclusão do “PONTO DE COLETA”33
- Figura 5 - Classificação da estrutura química dos hidrocarbonetos de petróleo. Fonte: Potter e Simmons (1998).36
- Figura 6 - Penetração e interação do óleo no sedimento de manguezal. Fonte: IPIECA (2003).42
- Figura 7 – Meio de cultura da bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri*.49
- Figura 8 - Local de coleta do sedimento de manguezal. A) Mapa do estado do Espírito Santo – ES/Brasil e o município de Vitória hachurado. B) Imagem da cidade de Vitória. C) Local de Coleta. Fonte: Google Earth.....51
- Figura 9 - Coleta do sedimento.53
- Figura 10 – Unidades experimentais em vasos. a) Fotografia do local de exposição das unidades experimentais em vaso. b) Desenho de esquematização da disposição das unidades experimentais.62
- Figura 11 – Unidade experimental Lata/PET. a) Garrafa pet de 2L e lata de alumínio de 350ml. b) Garrafa e lata cortadas. c) Lata dentro da pet com água

destilada.d) Unidade experimental instalada na prateleira de metal com experimento em andamento.	63
Figura 12 - Distribuição das unidades experimentais Lata/PET contendo sedimento com seus respectivos contaminantes ilustrando os dias de retirada das prateleiras para congelamento no freezer a -80°C.....	65
Figura 13 - Distribuição das unidades experimentais Lata/PET sobre as prateleiras no ambiente de experimentação (ETE).	65
Figura 14 - Lumistox 300 no meio do termobloco e do computador.	68
Figura 15 - Amostras solubilizadas.....	69
Figura 16 - Avaliação estatística das taxas de inibição da bioluminescência da <i>Vibrio fischeri</i> em ensaios com sedimento de manguezal contaminado com hidrocarbonetos de petróleo contidos nas unidades experimentais em vaso no período de cinco semanas.....	75
Figura 17 - Taxas de inibição da bioluminescência da <i>Vibrio fischeri</i> no sedimento de manguezal contaminado com hidrocarbonetos de petróleo (Petróleo, Fração12, 6 e 2) das unidades experimentais Lata/PET monitorado durante 3 meses.	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise estatística descritiva do fósforo e nitrogênio total e sua relação e teor de matéria orgânica em três pontos amostrais próximos à “ponte da passagem”.....	34
Tabela 2 – Frações de hidrocarbonetos provenientes do petróleo bruto com os respectivos pontos de ebulição, cadeia carbônica e derivados.....	35
Tabela 3 - Classificação dos tipos de óleo quanto à persistência no ambiente.	37
Tabela 4 - Impactos causados à biota após um derrame de petróleo no manguezal.	41
Tabela 5 - Efeitos à flora de manguezal no mundo impactada por derrame de hidrocarbonetos de petróleo.	43
Tabela 6 - Caracterização físico-química do petróleo bruto.	59
Tabela 7 - Caracterização físico-química das frações provenientes do petróleo bruto	59
Tabela 8 - Caracterização físico-química do sedimento de manguezal realizada mensalmente em cinco campanhas do ano de 2007 e 2008 no “ponto de coleta” determinado.	71
Tabela 9 - Avaliação estatística das taxas percentuais de inibição da bioluminescência da <i>Vibrio fischeri</i> em ensaios com sedimentos das unidades experimentais em vaso no período de cinco semanas.	73
Tabela 10 - Primeira avaliação dos parâmetros físico-químicos das Unidades Experimentais Lata/PET em três semanas.	76
Tabela 11 - Segunda avaliação dos parâmetros físico-químicos das Unidades Experimentais Lata/PET em quatro semanas.....	77
Tabela 12 - Avaliação estatística das taxas percentuais de inibição da bioluminescência da <i>Vibrio fischeri</i> em ensaios com sedimentos nas unidades experimentais Lata/PET no período de três meses.	79

LISTA DE SIGLAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

APA - Área de Proteção Ambiental

APHA - American Public Health Association

API - American Petroleum Institute

APP - Área de Preservação Permanente

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

DHN - Diretoria de Hidrografia e Navegação

EPA - Environmental Protection Agency

EUA – Estados Unidos da América

IEMA – Instituto Estadual de Meio Ambiente

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional

ISA - Índice de Sensibilidade Ambiental

ISO - International Organization for Standardization

ITOPF - The International Tanker Owners Pollution Federation Limited

LABPETRO - Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Metodologias para Análises de Petróleo

LABSAN - Laboratório de Saneamento Ambiental

MMA – Ministério do Meio Ambiente

NBR - Denominação de norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration

NPK - adubos à base de Nitrogênio (N), Potássio (K) e Fósforo (P)

PAH - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

SPRING – Sistema de Processamento de Informações Georreferenciadas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	21
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1. MANGUEZAL.....	22
3.1.1. O ecossistema.....	22
3.1.3. Manguezal de Vitória.....	26
3.1.2. O sedimento de manguezal	28
3.2. IMPACTOS ANTRÓPICOS EM ECOSSISTEMAS DE MANGUEZAL... 29	
3.2.1. Hidrocarbonetos de Petróleo como contaminante	34
3.2.2. Efeitos do derrame de petróleo e derivados em manguezal.....	39
3.2.3. Impactos por derrame de petróleo e derivados em manguezal no mundo.....	42
3.2.4. Impactos por derrame de petróleo e derivados em manguezal no Brasil.....	44
3.3. MONITORAMENTO DO ECOSSISTEMA MANGUEZAL.....	46
3.3.1. Metodologias para monitoramento de manguezal	46
3.3.2. Monitoramento ecotoxicológico em manguezal impactado por derramamento de hidrocarbonetos de petróleo.	49
4. MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1. ÁREA DE ESTUDO	51
4.2. COLETA.....	52
4.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SEDIMENTO DE MANGUEZAL.....	53
4.3.1. Temperatura,pH, salinidade e condutividade (APHA, 1995)	54
4.3.2. Granulometria (NBR 7181:1984).....	54
4.3.3. Teor de umidade do sedimento/Peso da matéria seca do sedimento (NBR 6457:1986).....	55

4.3.4. Teor de matéria orgânica (NBR13600:1996)	55
4.3.5. Determinação de massa específica dos grãos do sedimento (densidade do sedimento) (NBR 6508:1984).....	55
4.3.6. Fósforo total (APHA, 1995)	56
4.3.7. Nitrogênio Kjeldahl (APHA, 1995)	57
4.3.8. Nitrogênio amoniacal (APHA, 1995)	57
4.4. DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA PARA SIMULAÇÃO EX SITU DE DERRAME DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO	58
4.4.1. Petróleo bruto e suas frações utilizadas nos experimentos	59
4.4.2. Experimento preliminar (unidade experimental em vaso).....	60
4.4.3. Experimento definitivo (unidade experimental Lata/PET)	62
4.5. MONITORAMENTO POR ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS PRELIMINARES E DEFINITIVOS DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS	66
4.5.1. Ensaio ecotoxicológico	66
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	70
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SEDIMENTO DE MANGUEZAL	70
5.2. MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO PRELIMINAR COM <i>VIBRIO</i> <i>FISCHERI</i>	72
5.3. MONITORAMENTO FÍSICO-QUÍMICO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS LATA/PET	76
5.4. MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO DEFINITIVO COM <i>VIBRIO</i> <i>FISCHERI</i>	78
6. CONCLUSÃO.....	81
7. RECOMENDAÇÕES.....	82
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

1. INTRODUÇÃO

O ecossistema manguezal é comum às áreas litorâneas e tropicais. Ocorre em terrenos baixos, planos, em regiões estuarinas às margens de lagunas ou ao longo de rios e canais naturais, até onde ocorre o fluxo das marés. Nesses locais a força das marés é branda e a velocidade das correntes é baixa, propiciando uma intensa deposição de sedimentos finos e matéria orgânica. O substrato formado é de consistência pastosa, pouco compactado, alagadiço, rico em matéria orgânica praticamente anóxica e sujeito a períodos alternados de inundação e drenagem, conforme a variação de marés (SHAEFFER-NOVELLI *et al.*, 1990).

Estas regiões apresentam grande importância para a manutenção da vida marinha. Espécies de diferentes níveis tróficos, presentes na cadeia alimentar de organismos marinhos, passam parte do seu ciclo de vida no ambiente estuarino, por este motivo, este também é conhecido ecologicamente como berçário marinho (CURY, 2002).

Além do papel ecológico que o manguezal desempenha, também apresenta significativa importância socioeconômica, beneficiando a população que margeia este ambiente, fornecendo desde madeira para construções, carvão como combustível doméstico e pescado para consumo e comércio (NISHIDA *et al.*, 2008). No município de Vitória as “Paneleiras de Goiabeiras” dependem do barro, do sedimento de manguezal e do tanino proveniente do mangue vermelho (*Rizophora mangle*), para confecção das panelas de barro, símbolo cultural capixaba. Sendo que cerca de 120 famílias sobrevivem da venda destes utensílios (IPHAN, 2002).

A cidade de Vitória é rodeada por manguezais. Praticamente todo o manguezal da cidade é parte do Parque Ecológico Municipal do Lameirão, criado e amparado pela lei municipal 3377 de 12 de setembro de 1986.

A localização geográfica dos manguezais propicia a ocupação e uso dos solos, que vem ocorrendo de modo desordenado nas cidades, tornando-os mais vulneráveis aos impactos antrópicos. O lançamento de esgotos domésticos, efluentes industriais, lubrificantes e combustíveis fósseis provenientes da manutenção ou acidentes com embarcações são os tipos de contaminação mais comuns nos ambientes estuarinos.

Os manguezais estão entre os ecossistemas mais sensíveis e ameaçados a derramamento de óleo. Devido à alta concentração de matéria orgânica no sedimento, hidrocarbonetos de petróleo apresentam afinidade química, acumulando-se com facilidade, podendo causar não só impactos imediatos (agudos), como os de longo prazo (crônicos) a toda biota que participa dos processos essenciais para manutenção deste ecossistema (DAVOODI e CLAIREAUX, 2007; NOAA, 2002; MMA, 2002; LEWIS, 1983 *apud* NOAA, 2002). Assim, existem três principais fases de interação do óleo nos manguezais: asfixia mecânica, toxicidade química e a recuperação (ZAGATTO, 2008; SNEDAKER, 1985 *apud* FARIAS, 2006).

No mundo, embarcações de diversos portes apresentam um índice estatístico expressivo de derramamento de óleo no mar, que podem estar relacionadas aos procedimentos de operação (carga/descarga, abastecimento, dentre outras) ou simplesmente por acidentes (colisão, encalhe, rompimento de casco, fogo e explosão, entre outras) (ITOPF, 2009). Alguns destes tipos de acidentes, como ocorrido com a Exxon Valdez em 1989, Prestige em 2002 e o Erika em 1999, causaram impactos ambientais devastadores aos ecossistemas marinhos.

As indústrias petroquímicas são fontes de risco à poluição antrópica. Este setor no mundo cresce constantemente e dobrou sua produção no país em 10 anos. Especialmente o estado do Espírito Santo ocupa o segundo lugar em produção de petróleo no país, tendo-se descoberto reservatórios no mar com expressivas quantidades de petróleo de boa qualidade, para comercialização, induzindo às concessionárias fazerem exploração *off shore* (ANP, 2009; BP, 2009; NOAA, 2002; MMA, 2002).

No ano de 2000 a Refinaria de Duque de Caxias – REDUC teve um de seus dutos rompidos acidentalmente, espalhando o óleo por boa parte da baía da Guanabara, alcançando a Área de Proteção Ambiental (APA) de Guapimirim, gerando sérios danos à biota deste manguezal, que ainda sofre consequências deste desastre.

As técnicas que permitem remover o petróleo e/ou seus derivados no manguezal são bem limitadas, mas nem sempre são suficientes para recuperar ou remediar o ambiente. Assim, antes de aplicar qualquer tipo de tratamento num manguezal prejudicado por derramamento é necessário conhecimento e muito cuidado nas decisões para tentar recuperar o ambiente, para que este impacto seja minimizado e

não agravado. Logo, diagnosticar ou monitorar os impactos ambientais deve ser o primeiro passo, através de técnicas analíticas físico-químicas e biológicas. Até mesmo para auxiliar no processo da atenuação natural ou recuperação natural deste ambiente, que em muitos casos no manguezal pode ser a forma de tratamento mais adequada (NOAA, 2002).

A quantificação de contaminantes, como tipos de hidrocarbonetos de petróleo, numa determinada área, pode ser realizada através de análises físico-químicas, mas seus efeitos biológicos não podem ser determinados por meio destes tipos de análises. Portanto, a avaliação efetiva de impactos a biota deve ser sobre a biodisponibilidade destes poluentes no local, através dos ensaios ecotoxicológicos que atuam como ferramenta de monitoramento ambiental capaz de diagnosticar os possíveis níveis de efeitos agudos e crônicos (CETESB, 2009; ZAGATTO, 2008; CETESB, 2006).

Os ensaios ecotoxicológicos podem ser executados por diversos organismos, contanto que sigam alguns princípios básicos como: representatividade do organismo, viabilidade de manutenção em laboratório, sensibilidade aos poluentes e que estas espécies sejam padronizadas. A *Vibrio fischeri*, é um exemplo de organismo adequado para ser utilizado no monitoramento de manguezal impactado por derrame de hidrocarbonetos de petróleo (CETESB, 2006).

A bactéria marinha bioluminescente, *Vibrio fischeri*, é representativa à microbiota sedimentar do manguezal e também é padronizada para ensaio ecotoxicológico agudo. Não requer manutenção para cultivo laboratorial quando são obtidas liofilizadas. É extremamente sensível aos efeitos dos hidrocarbonetos de petróleo, principalmente a classe dos aromáticos (CETESB, 2009; KNIE E LOPES, 2004).

Sendo assim, através destes ensaios ecotoxicológicos foi possível monitorar os efeitos biológicos agudos e crônicos de derrames simulados de hidrocarbonetos de petróleo no sedimento de manguezal em unidades experimentais *ex situ*.

2. OBJETIVOS

Geral:

Monitorar a atenuação natural da toxicidade do sedimento de manguezal proveniente do município de Vitória (ES) contaminado com hidrocarbonetos de petróleo após derrames simulado.

Específicos:

- Caracterizar o sedimento de uma área de manguezal no município de Vitória (ES).
- Desenvolver uma metodologia para simulação *ex situ* de derrame de hidrocarbonetos de petróleo e monitoramento de suas consequências em sedimento de manguezal.
- Avaliar a atenuação natural da toxicidade de sedimento de manguezal contaminado com petróleo e suas frações *ex situ* por meio de ensaio de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. MANGUEZAL

3.1.1. O ecossistema

O ecossistema manguezal tem uma distribuição aproximada de 240.000 Km² no mundo, localizada nas regiões de entremarés nos hemisférios tropicais e subtropicais, entre as latitudes 25° N e 25° S (NOAA, 2002). Já Schaeffer-Novelli *et al.* (2000) delimita os manguezais brasileiros da divisa com a Guiana Francesa (04° 30' N) até o município de Laguna no estado do Rio Grande do Sul (28° 30' S).

O manguezal apresenta grande importância ecológica, tendo como papel à manutenção da vida marinha (CURY, 2002). Espécies de diferentes níveis tróficos presentes na cadeia alimentar de organismos marinhos, passam parte do seu ciclo de vida no ambiente estuarino, por este motivo, estes também são conhecidos como berçários marinhos (Figura 1). A formação destes habitats está relacionada ao aporte de materiais sedimentares provenientes do mar e do continente, tornando-os um ambiente de transição e de alta produtividade. Também são formados nas regiões de planícies costeiras, em estuários com águas ricas em material em suspensão e que não são perturbadas, constituindo ecossistemas de baixa energia (VANNUCCI, 1999).

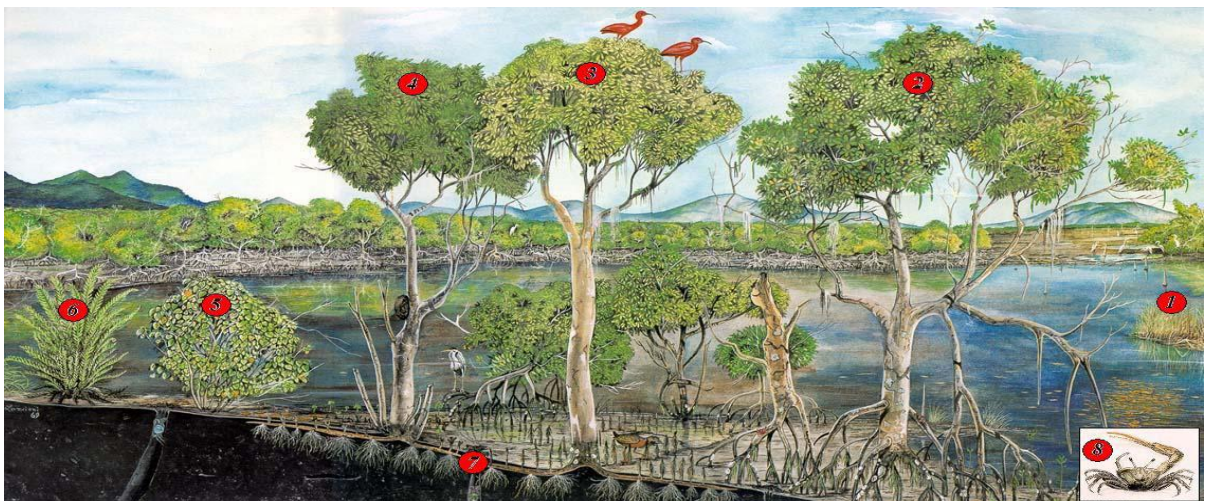


Figura 1 - Algumas das principais espécies vegetais encontradas no manguezal (1: *Spartina* spp.; 2: *Rhizophora mangle*; 3: *Avicennia schaueriana*; 4: *Laguncularia racemosa*; 5: *Hibiscus tiliaceus*; 6: *Acrosticum aureum*) dentre outras espécies bem características como os caranguejos (7: *Ucides cordatus*, 8 *Uca thayeri*). Modificada pelo autor de Cebimar (2005) apud Ferreira (2006).

Este ecossistema é bem caracterizado pela sua vegetação, que apresentam resistência à variação de marés e salinidade, condições estas que dificultam a competitividade entre espécies não adaptadas ao meio, devido à fisiologia e morfologia (NOAA, 2002).

A reprodução dos mangues é um fato curioso, já que muitos são seres hermafroditos (ambos os sexos na mesma planta). Estes são sempre polinizados pela biota residente como abelhas, pequenos insetos, mariposas, morcegos e pássaros, exceto *Rizophora*, que se autopoliniza. Na maioria dos mangues a fase embrionária acontece ainda em parte do ciclo parental (condição também conhecida como viviparidade). Não há estágio de dormência dos embriões e o crescimento se dá fora da semente, antes mesmo do fruto, quando deixa a planta de origem, quando são chamados de propágulos, também conhecidos como mudas e não como sementes. Estas “mudas” resistem por muito tempo flutuando, devido às reservas de nutrientes, seguindo correntes e o fluxo de marés, até que encontrem um lugar apropriado (com baixa competição entre outras espécies, devido às condições de salinidade e variação de marés), onde dará início ao desenvolvimento de um novo mangue. A variação de marés nos estuários também pode ajudar na dispersão dos propágulos de mangue, permitindo que flutuem e alcancem regiões propícias ao seu desenvolvimento (NOAA, 2002).

A evapotranspiração é intensa nas plantas destes ambientes, normalmente através das folhas, isso porque nestas regiões geralmente ocorrem aumentos consideráveis da salinidade, visto que o fluxo de água é restrito (NOAA, 2002).

Na flora de manguezal envolve diferentes mecanismos para tolerar a alta salinidade: como exclusão do sal, secreção, ou excreção, do sal e tolerância a altas concentrações do sal. A exclusão se dá por meio de mecanismos desenvolvidos pelas raízes das plantas, que são ultra filtrantes, não permitindo a entrada do sal. Na secreção do sal, existem órgãos especializados, como glândulas secretoras de cristais de sal, mais encontradas nas folhas, que podem ser carregados de volta ao ambiente após uma chuva. Já a tolerância às altas concentrações de sal, é apenas uma adaptação que envolve um conjunto de variáveis a que estas plantas estão submetidas (NOAA, 2002).

No mundo são aproximadamente vinte famílias de mangue no manguezal, sendo encontradas aproximadamente 70 espécies, como da família *Rhizophoraceae* e a *Avicenniaceae* (NOAA, 2002). No Brasil as espécies *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa*, *Avicennia schaueriana* e *Avicennia germinans*, são as mais comuns em todo o litoral (SOARES *et al.*, 2003; FERREIRA, 1989) (Figura 1):

- *Rhizophora mangle*: Também conhecidas como mangue vermelho, estas apresentam raízes-escora que dão sustentação à planta e devido a estas, podem se desenvolver em terrenos instáveis, não consolidados e alagadiços, sob influência da variação de marés. Porém estas preferem áreas protegidas das correntes e ondas fortes.

- *Laguncularia racemosa*: Apresentam sistema radicular pouco profundo, constituído por pneumatóforos emergentes. Chamado de mangue branco, possui uma ampla distribuição pelo manguezal, por suportar diferentes níveis de salinidade devido às glândulas excretoras de sal presente em suas folhas. Porém, não toleram muito as baixas temperaturas e sombreamento.

- *Avicennia schaueriana* e *Avicennia germinans*: O gênero *Avicennia* apresenta espécies com glândulas secretoras de sal em suas folhas, por isso mais tolerante a sedimentos com grande concentração de sal. Estas duas espécies são encontradas com maior frequência nos limites latitudinais nos manguezais e portanto resistem a temperaturas mais baixas. O sistema radicular é bastante superficial, que são justamente de onde brotam pneumatóforos. Estas espécies são conhecidas como mangue preto e desenvolvem-se normalmente em lugares mais secos.

Diariamente parte da vegetação do manguezal deve ficar encoberta pelas águas dos estuários nos momentos de cheia das marés, o que certamente pode estar também relacionado com a topografia do local, o fluxo dos rios, precipitação intensa de chuvas, em casos mais esporádicos, podendo caracterizar-se como enchentes, nível de água subterrânea e evapotranspiração (NOAA, 2002).

Na condição de maré cheia, o oxigênio no solo decresce, impactando os tecidos das raízes que precisam de oxigênio para suprir seus processos metabólicos, além de substâncias tóxicas que crescem em estado de anaerobiose, como o enxofre. Logo, para melhor captação do oxigênio, alguns mangues desenvolveram mecanismos de

adaptação morfológica, como é o caso dos pneumatóforos nas espécies do gênero *Avicennia* e *Laguncularia* (NOAA, 2002).

A fauna de manguezal é composta por organismos que dependem deste ambiente por todo o ciclo de vida, ou ainda, os que passam em apenas algum estágio de sua vida, como é o caso da fase reprodutiva e a fase juvenil para alguns animais (YAÑEZ-ARANCIBIA *et al.*, 1988).

Diversos grupos de invertebrados são facilmente encontrados nestes ambientes; artrópodes (Insetos e crustáceos), moluscos, que são bem abundantes e exercem um papel importante no ecossistema (SMITH, 1987 *apud* NOAA, 2002). Numerosos grupos de insetos realizam papéis ecológicos fundamentais no ecossistema manguezal, como polinização, herbivoria e predação (HOGARTH, 1999). Assim como muitos insetos predadores, caranguejos e gastrópodes fazem parte da cadeia alimentar como detritívoros, auxiliando principalmente na decomposição das folhas que caem dos mangues, através do pastoreio. Estas espécies que estão intimamente ligadas ecologicamente todo o ano, são imprescindíveis no manguezal e por isso vivem todo ciclo da vida neste ecossistema (NOAA, 2002).

Algumas espécies de camarão, peixes, por exemplo, refugiam-se no manguezal em parte de seus ciclos de vida reprodutiva e juvenil, buscando proteção e fontes de alimentação. Assim também são as aves, como as cerca de 200 espécies na Flórida (EUA) e na Austrália, que procuram o manguezal no período de nidificação ou simplesmente para alimentação. Diferentemente de espécies, que aparecem no ambiente ocasionalmente, portanto não dependem do manguezal para sobreviverem, como é o caso das tartarugas, golfinhos, botos, entre outros grupos e por isso são também conhecidos como visitantes (NOAA, 2002; EWEL *et al.*, 1998).

O ecossistema de manguezal do ponto de vista ecológico é bastante complexo. As dimensões ecossistêmicas podem ser observadas/estudadas em diferentes escalas, desde animais e vegetais de grande porte, como aves, peixes e alguns crustáceos, até o mundo microscópico, onde há interações de microorganismos do tipo bactérias, fungos e protozoários. Que apesar das dimensões, apresentam uma relação de dependência, mesmo que seja indireta (ODUM, 1985).

Assim, ecossistemas como o manguezal, também apresentam uma forte relação com os seres humanos. Muitas pessoas sobrevivem da pesca, catadores de caranguejo, artesanato, ecoturismo, lazer, dentre outras atividades. Logo, este tipo de ambiente é responsável por movimentar a economia de uma região, conseqüentemente passa a exercer um importante papel social (NISHIDA *et al.*, 2008; ODUM, 1985).

3.1.3. Manguezal de Vitória

Vitória apresenta uma área de 891,93 hectares de manguezal. Grande parte deste ecossistema localiza-se nas proximidades do Rio Santa Maria da Vitória e Canal da Passagem, que separam a Ilha de Vitória do continente. (TULLI, 2007).

O manguezal apresenta importância à cidade tanto economicamente quanto culturalmente, já que além da pesca, dos catadores de caranguejo, como de costume nas regiões de manguezal, há também a manufatura das panelas de barro pelas paneleiras de Goiabeiras, que utilizam o manguezal como fontes de matéria prima, para confecção destes utensílios. Inúmeras famílias no bairro de Goiabeiras sobrevivem da venda deste tipo de artesanato.

A panela de barro, símbolo regional, utiliza o barro do sedimento de manguezal e o tanino das Rizophoras, mangue vermelho (*Rizophora mangle*), de forma sustentável para fabricação destes utensílios, que é registrado como um bem cultural concretizado através do “Ofício das Paneleiras de Goiabeiras”. Este ecossistema apresenta elevada importância sócio-econômica para a cidade e vem sendo estudado constantemente, principalmente pelos impactos antrópicos sofridos e conseqüentemente devido à vulnerabilidade (TULLI, 2007; IPHAN, 2002; PAIVA, 1999).

Tulli (2007) fez um levantamento de uso e ocupação do solo de 1978 à 2005, de grande parte da Estação Ecológica Municipal do Lameirão, Vitória – ES (entre as coordenadas 20°14’S e 20°17’S, 40°16’ W e 40°20’W), área abrangente ao local de coleta estudado pelo presente trabalho (Figura 2).

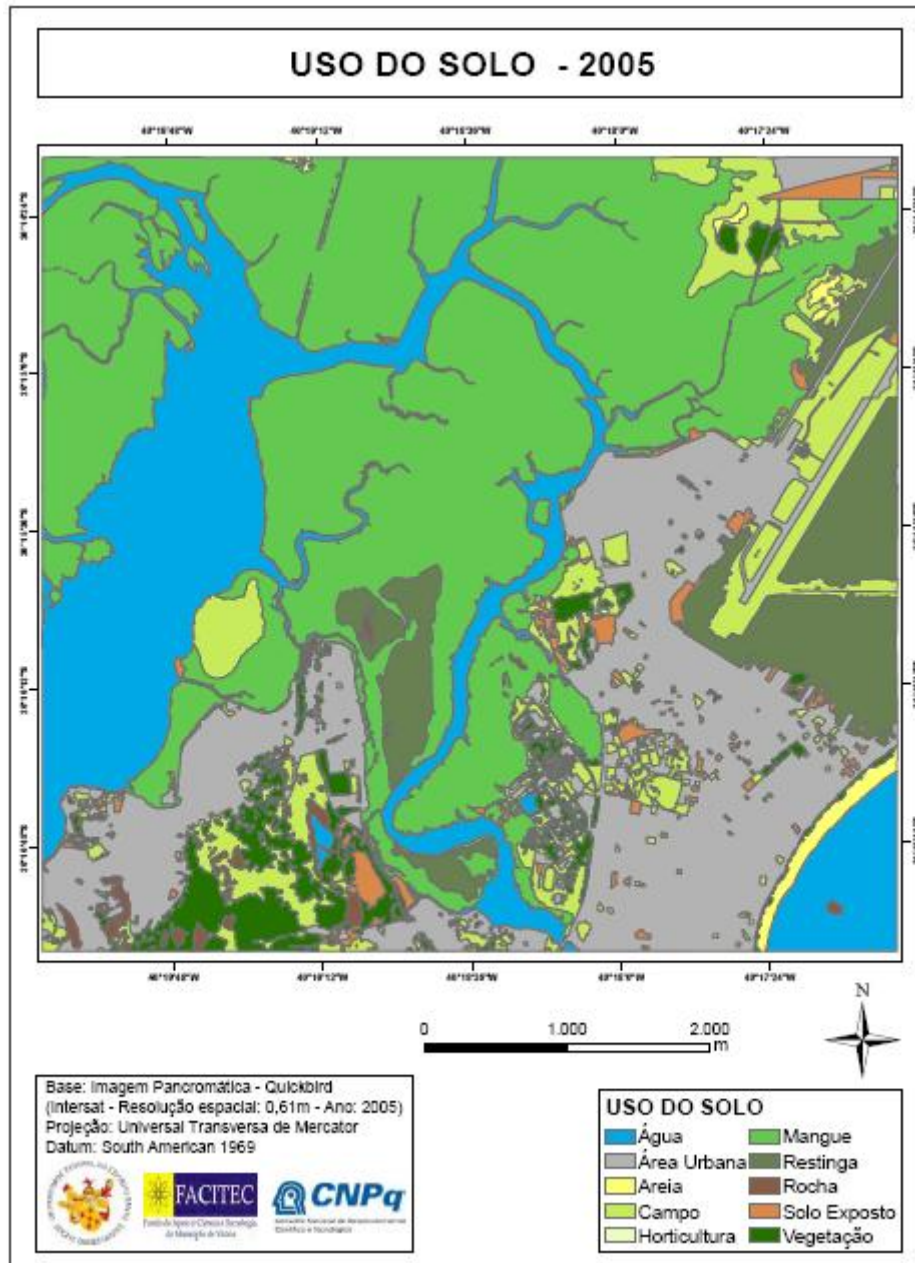


Figura 2 - Mapa de uso e ocupação do solo do ano de 2005. Parte da Estação Ecológica Municipal Ilha do Lameirão. Fonte: Tulli (2007).

Apesar de existir uma Lei Federal, a nº 4771 de 1965 que constitui qualquer manguezal como área de preservação permanente (APP) e uma Lei Municipal, a 3377 de 12 de setembro de 1986 que criou e defende a integridade da Estação Ecológica Ilha do Lameirão, ainda há ineficiência de fiscalização nestas áreas, que são refletidos pelos processos de degradação que este ecossistema tem sofrido.

3.1.2. O sedimento de manguezal

Os sedimentos desses ecossistemas, por estarem em ambientes de baixa energia, apresentam frações granulométricas mais finas (argila e silte) em predominância, com elevadas quantidades de matéria orgânica e sais solúveis em função do contato com o mar. Devido à decomposição da serrapilheira (onde se caracterizam também pela emissão do odor de enxofre, junto ao gás metano) e à saturação pela água, apresentam solos ausentes de oxigênio, de cores acinzentadas a negras e pouco consolidados, (CINTRÓN e SCHAEFFER-NOVELLI, 1983 *apud* FERREIRA, 2006).

Os mangues são os mais importantes contribuintes de matéria orgânica para o manguezal, através da decomposição das folhas, que conseqüentemente devem sofrer o processo de pastoreio pelos caranguejos e ação de biodegradação pelos microorganismos (NOAA, 2002; ODUM, 1985).

Segundo Ferreira (2006), a participação e a intensidade de cada um dos processos ligados à decomposição da matéria orgânica do sedimento de manguezal podem variar em função das distintas posições fisiográficas, devido a seus efeitos sobre a frequência e duração de inundação e composição granulométrica destes sedimentos, ou seja, ao aporte sedimentar que será característico e determinado para cada região. Assim como a ocorrência ou a dominância de um processo sobre os demais, afeta de forma significativa a composição das fases, sólida e líquida destes solos, no que se refere, por exemplo, à composição de ferro e enxofre.

A diversidade da microbiota em sedimento ou solo é extremamente elevada. O mundo dos microrganismos é representado pela forma de vida mais abundante e diversificada no planeta (WHITMAN *et al.*, 1998 *apud* CURY, 2002). Através da análise da cinética de reassociação de DNA, tem sido estimado que em um grama de solo ou sedimento pode conter mais de 10.000 genomas diferentes (TORSVIK *et al.*, 1998 *apud* CURY, 2002). Para sistemas de microambientes não é diferente, certamente será possível observar uma série de interações destes microorganismos, como a relação de consórcios entre protozoários e bactérias (ODUM, 1985).

Os microorganismos se caracterizam de acordo com cada tipo de sedimento e ambiente físico-químico e biológico proporcionado, assim como destaca a hipótese de Gaia (LOVELOCK, 1979 *apud* ODUM, 1985). Logo, Ferreira (2006) pôde

observar as influências nos sedimentos anóxicos do manguezal, sobre as Bactérias Redutoras de Sulfato – BRS, que apesar de ativa no sedimento de manguezal, se encontraram limitadas pelas baixas concentrações de ferro reativo (óxidos e oxidróxidos de Fe) fazendo com que a síntese de sulfetos de ferro possa ser prejudicada e as concentrações de HS⁻ na água intersticial atingissem valores maiores. Assim, fica claro o efeito da disponibilidade mineralógica e condições físico-químicas e biológicas que caracterizam os sedimentos de manguezal (FERREIRA, 2006).

3.2. IMPACTOS ANTRÓPICOS EM ECOSISTEMAS DE MANGUEZAL

Os manguezais estão sob constante risco de degradação devido a atividades industriais e portuárias, pesqueiras, exploração mineral, turísticas, entre outras, que, sem um planejamento adequado, vem colocando em risco os estuários e ecossistemas associados. A estimativa é que cerca de 1 milhão de hectares de manguezais são perdidos anualmente no mundo todo (MOSCATELLI, 1999).

Dentro destas atividades de potenciais riscos de degradação, as causas de poluição no ecossistema manguezal podem ser térmicas, metais pesados, agrotóxicos, poluição por nutrientes e os derramamentos de óleo (NOAA, 2002).

A poluição por diferença térmica pode ser gerada por efluentes lançados no ambiente com temperaturas diferentes, o que podem causar efeitos diretos nos ciclos de vida dos mangues, visto que os propágulos são sensíveis à diferença de temperatura, além de estimular o crescimento populacional de algumas algas. Os mangues adultos podem sofrer, com estes impactos, processos de desfolhação (NOAA, 2002).

Os metais pesados (especialmente, mercúrio, chumbo, zinco, cádmio e cobre) podem se acumular com facilidade nos sedimentos, podendo estar disponíveis novamente à água por qualquer revolvimento do sedimento, que conseqüentemente podem chegar aos seres vivos através dos processos de bioacumulação, causando estresse e interferência dos ciclos reprodutivos da fauna (NOAA, 2002).

Os agrotóxicos podem chegar aos rios e aos estuários, devido à lixiviação em plantações que fazem margem a estes ambientes. Da mesma forma que os metais

também se acumulam facilmente nos sedimentos e nos organismos, até mesmo por serem em geral, compostos orgânicos sintéticos. Também afetam seriamente o ciclo de vida de peixes, crustáceos e moluscos, causando interferências nos genes destes indivíduos (NOAA, 2002).

Nutrientes do tipo nitrogênio e fósforo são fertilizantes muito utilizados na agricultura e que sofrem os processos de lixiviação similares ao dos agrotóxicos, mas também podem chegar aos estuários pelo lançamento de esgotos. Porém, estes nutrientes em quantidades elevadas podem causar alterações no ambiente como consequência a eutrofização, diagnosticada pelo afloramento de algas. Os efeitos podem ser adversos à biota, como asfixiar as raízes aéreas dos mangues. As camadas de algas geradas pelo excesso destes nutrientes também podem dificultar a fertilização dos propágulos dos mangues nestes ambientes, além do consequente crescimento excessivo dos microorganismos, que poderá causar depleção do oxigênio na água (NOAA, 2002; HOGARTH, 1999; TWILLEY, 1998 *apud* NOAA, 2002).

Processos importantes como a ciclagem dos nutrientes comuns ao ambiente estão diretamente relacionada a atividade e diversidade das comunidades microbianas do solo. Poluentes de origem antrópica podem alterar a estrutura das comunidades microbianas e causar desequilíbrios ecológicos que podem levar à extinção de espécies importantes ou diminuir a ciclagem de nutrientes para a manutenção do ecossistema (CURY, 2002). A poluição no solo também pode conduzir a um decréscimo na diversidade microbiana em termos de abundância de espécies, devido à extinção de espécies não adaptadas ao estresse imposto, e ao mesmo tempo ocasionar o enriquecimento de espécies particulares mais adaptadas a esse estresse (ALEXANDER, 1999).

Os impactos antrópicos nos manguezais capazes de gerar estes efeitos são muitos e estes são constantemente estudados. Como no canal da Bertioga, no estado de São Paulo, Baía da Guanabara no estado do Rio de Janeiro e na Estação Ecológica da Ilha do Lameirão em Vitória, demonstram degradação principalmente por ocupação e uso de solo das regiões de manguezal (TULLI, 2007; SANTOS *et al.*, 2006; FARIAS, 2006; ZARONI, 2006; SOARES *et al.*, 2003).

Santos *et al.* (2007) fez um levantamento comparativo do canal da Bertioga entre os períodos de 1962 e 1994, onde foram processadas no SPRING (Sistema de Processamento de Informações Geográficas – INPE), efetuando-se classificação visual e composição colorida (Figura 3). Os resultados indicam que a paisagem no trecho sul do Canal de Bertioga sofreu drásticas alterações espaço-temporais, com diferentes formas de uso e ocupação do solo que suprimem vastas áreas de manguezal e floresta atlântica. Logo, ficou constatado uma dinâmica de ocupação antrópica que afeta diretamente o estado de conservação dos sistemas naturais, evidenciando assim, a necessidade de uma maior fiscalização que garanta a conservação desta zona costeira. Zaroni (2006) através de ensaios ecotoxicológicos com amostras de sedimento da região também pôde evidenciar as conclusões de Santos *et al.* (2007) sobre a influencia antrópica por despejos de esgotos.

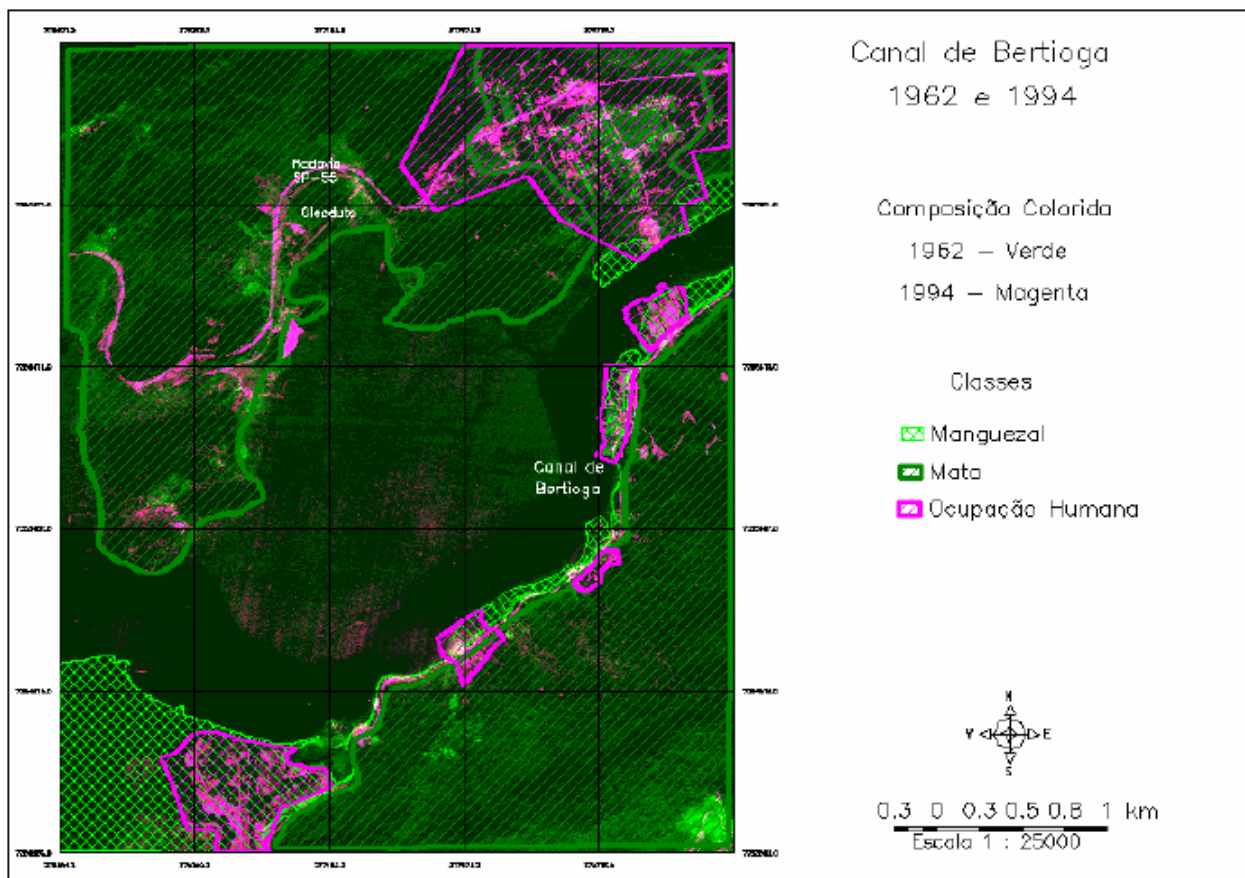


Figura 3 - Composição colorida (RGB) e classificação visual: aerofotos do Canal de Bertioga. 1962 (verde) e 1994 (magenta). Fonte: Santos *et al.*, (2006).

A Baía da Guanabara é outra região com grandes problemas, pelo fato de ter suas margens rodeadas por grandes cidades, que em boa parte fizeram uso e ocupação

do solo das áreas de manguezal e que despejam poluentes prejudicando este ecossistema. Isso, evidenciado através do estudo realizado por Soares *et al.* (2003), que abordou características estruturais e funcionais das florestas de manguezal as quais são determinadas pela interação de características ambientais, atuando em escala global, regional e local, apresentando sintomas de influência de atividades humanas. Logo, as características estruturais dos manguezais da Baía de Guanabara foram estudadas durante três anos (2000-2002) e as florestas estudadas apresentaram uma alta diversidade estrutural, refletindo a ação destes tensores, que determinaram diferentes graus de degradação e também estágios de regeneração (diferentes fases da sucessão secundária) observada no estudo.

A exceção das regiões de manguezal do estado de São Paulo e Rio de Janeiro, Tulli (2007) concluiu que apesar da degradação dos manguezais, foi observada uma regeneração de 3,37% deste ecossistema na área, porém o mesmo local estudado ficou classificado por uma vulnerabilidade antrópica de média à alta (Figura 4).

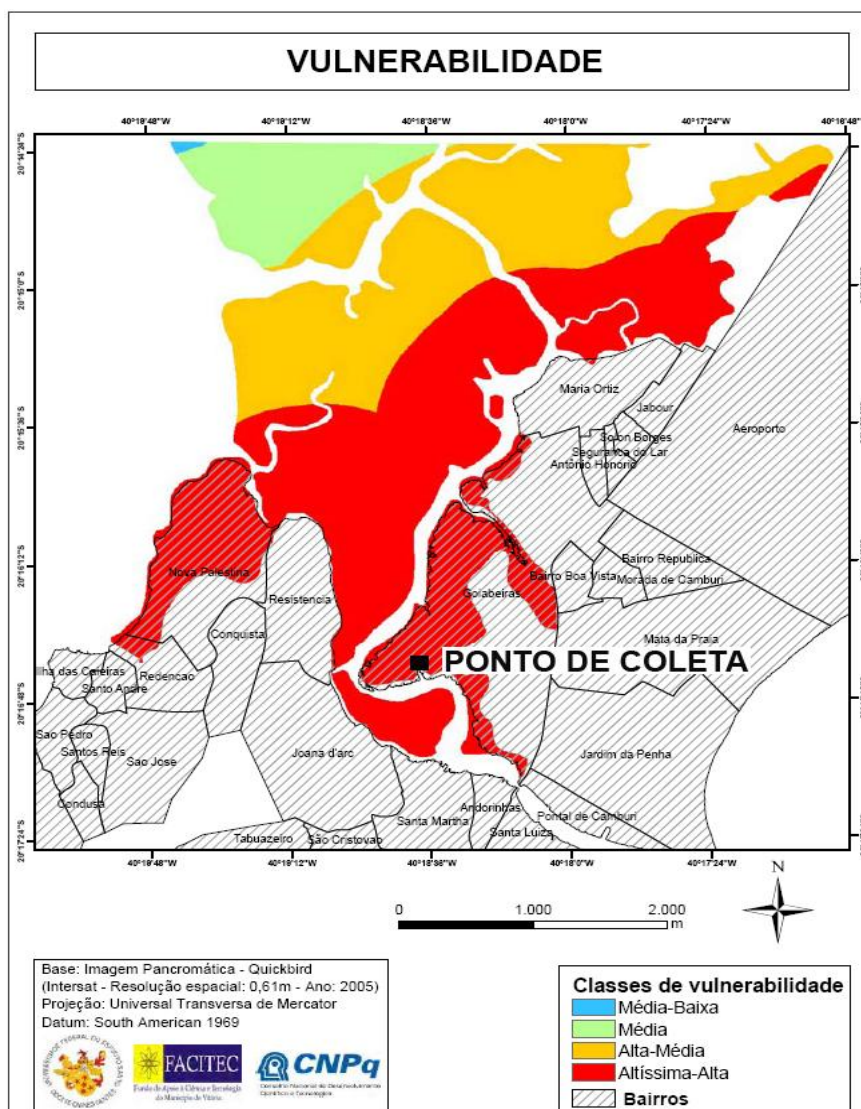


Figura 4 - Classes de vulnerabilidade à ação antrópica para a Estação Ecológica. “PONTO DE COLETA” do presente trabalho. Fonte: Tulli (2007) com adaptação. Inclusão do “PONTO DE COLETA”.

A influência antrópica que Tulli (2007) concluiu com os mapas de vulnerabilidade sobre a região, também já tinha sido afirmado por Paiva (1999), através do estudo sedimentológico de manguezal no canal da passagem, localizado também na Estação Ecológica Municipal de Vitória. Este autor concluiu que os teores de lama foram superiores a 50% margeando a Ilha do Lameirão, indicando o desmatamento dos manguezais. Outro fator determinado em sua pesquisa foi a distribuição do teor de matéria orgânica, onde predominaram teores inferiores a 5%, porém, teores entre 5 e 15 % são encontrados no entorno da Ilha do Lameirão, enquanto que os teores superiores a 15% apresentam uma relação com o lançamento de esgoto no local.

Dias (2005) também encontrou indicativo da eutrofização, que Tulli (2007) e Paiva (1999) concluíram, através dos resultados com altíssimos teores de Fósforo,

Nitrogênio e Matéria Orgânica, em três pontos de coleta de sedimento de manguezal ao lado da “Ponte da Passagem”, dentro do campus da UFES (Tabela 1).

Tabela 1 - Análise estatística descritiva do fósforo e nitrogênio total e sua relação e teor de matéria orgânica em três pontos amostrais próximos à “ponte da passagem”.

PONTO 1				
	P-total (µg/g)	N-total (µg/g)	N/P	%M.O
Máximo	5104,98	8043,65	18,97	33,98
Mínimo	939,04	6104,27	2,85	23,00
Média	3667,44	6331,25	5,31	27,58
Desvio padrão	892,36	195,82	3,78	2,70
PONTO 2				
	P-total (µg/g)	N-total (µg/g)	N/P	%M.O
Máximo	4811,61	10394,13	13,11	31,07
Mínimo	1525,80	9116,57	3,85	19,00
Média	3344,73	9766,50	7,18	26,11
Desvio padrão	848,51	842,66	2,38	3,95
PONTO 3				
	P-total (µg/g)	N-total (µg/g)	N/P	%M.O
Máximo	5134,32	10026,28	4,75	30,00
Mínimo	2757,98	4957,49	3,05	20,75
Média	4488,89	7466,63	4,45	24,93
Desvio padrão	711,46	1889,17	1,06	2,52

Fonte: Dias (2005)

3.2.1. Hidrocarbonetos de Petróleo como contaminante

A palavra Petróleo, de origem latina, se compõem da junção *petra* (pedra) *oleum* (óleo). Esta é uma substância oleosa, inflamável e normalmente menos densa que a água, com cheiro característico, cor variando entre o negro e o castanho-claro (THOMAS, 2004).

A origem do petróleo vem da matéria orgânica depositada junto com os sedimentos. E a característica deste óleo, quanto à composição, é definida de acordo com o teor e tipos de matéria orgânica, sedimento e as condições termoquímicas não oxidantes (THOMAS, 2004).

O petróleo consiste de uma mistura com peso molecular variável que apresenta uma composição molecular de aproximadamente 84,5% de carbono, 13% de hidrogênio, 1,5% de enxofre, 0,5% de nitrogênio e 0,5% de oxigênio. Logo, devido ao alto percentual de carbono e hidrogênio, estes são também conhecidos como

Hidrocarbonetos. Além do enxofre, nitrogênio e oxigênio, também podem ser encontrados em suas composições metais e ácidos orgânicos (THOMAS, 2004).

Existem mais de 600 compostos químicos de hidrocarbonetos identificados no petróleo que são difíceis de serem totalmente separados, mas são possíveis de fracioná-los em determinados pontos de ebulição, que incluem grupos de compostos químicos (FETTER, 1993) (Tabela 2).

Tabela 2 – Frações de hidrocarbonetos provenientes do petróleo bruto com os respectivos pontos de ebulição, cadeia carbônica e derivados.

FRAÇÃO	TEMPERATURA DE EBULIÇÃO (°C)	COMPOSIÇÃO APROXIMADA	USOS
Gás residual	-	C ₁ – C ₂	Gás combustível
Gás liquefeito de petróleo – GLP	Até 40	C ₃ – C ₄	Gás combustível engarrafado, Uso doméstico e industrial.
Gasolina	40 – 175	C ₅ – C ₁₀	Combustível de automóveis, solvente.
Querosene	175 – 235	C ₁₁ – C ₁₂	Iluminação, combustível de aviões a jato.
Gasóleo leve	235 – 305	C ₁₃ – C ₁₇	Diesel, fornos.
Gasóleo pesado	305 – 400	C ₁₈ – C ₂₅	Combustível, matéria-prima para lubrificantes.
Lubrificantes	400 – 510	C ₂₆ – C ₃₈	Óleos lubrificantes.
Resíduo	Acima de 510	C ₃₈₊	Asfalto, piche, impermeabilizantes.

Fonte: Thomas (2004).

Estes hidrocarbonetos são compostos orgânicos formados por carbono e hidrogênio, que podem ser classificados como saturados, insaturados e aromáticos (Figura 5). Os saturados, também denominados alcanos e parafinas (*parafine*, em latim, que quer dizer; “pequena atividade”, por serem comparativamente inertes), compostos de átomos de carbono com ligações simples e com maior número de átomos de hidrogênio, podendo se apresentar por cadeias lineares, ramificadas ou cíclicas, interligadas ou não. Já os hidrocarbonetos insaturados, também denominados de olefinas, apresentam pelo menos uma dupla ou tripla ligação carbono-carbono, são compostos de alto peso molecular. Os hidrocarbonetos aromáticos, também

conhecidos como arenos, apresentam pelo menos um anel de benzeno na estrutura, e são compostos leves, de baixo peso molecular (THOMAS, 2004; FERREIRA *et al.*, 1998).

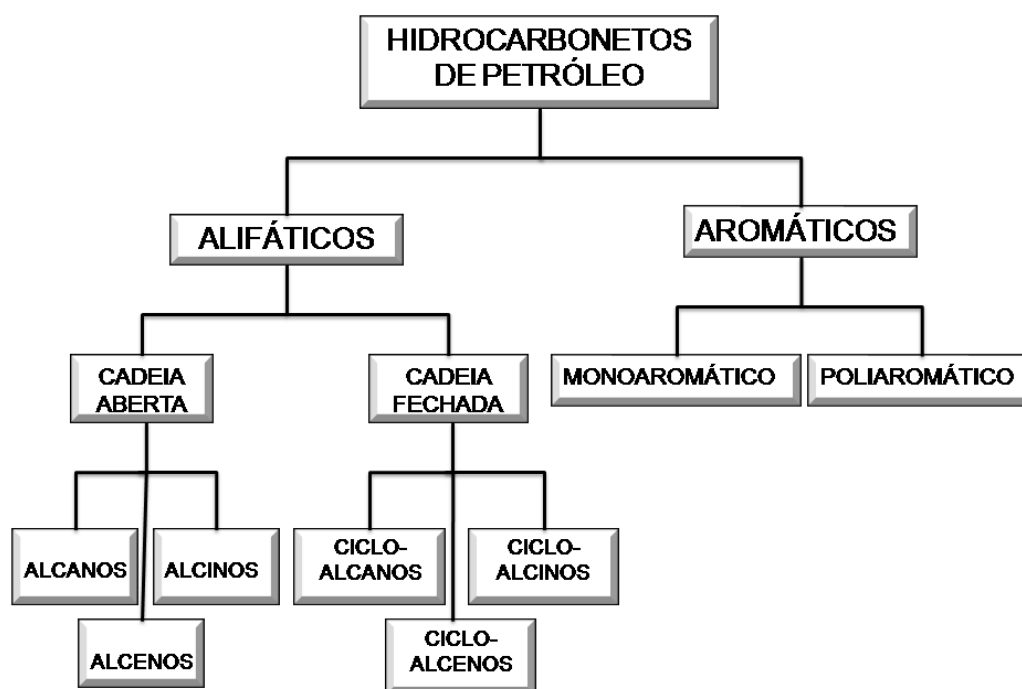


Figura 5 - Classificação da estrutura química dos hidrocarbonetos de petróleo. Fonte: Potter e Simmons (1998).

Relacionado com composição química, o tipo de óleo também é caracterizado fisicamente, quanto a densidade, viscosidade e grau °API, que é a densidade do óleo em relação a água estabelecida pelo Instituto Americano de Petróleo (American Petroleum Institute – API).

O comportamento do óleo no ambiente está diretamente ligado às características físico-químicas e segundo o ITOPF (2009) podem ser classificados como não persistentes, que tendem a desaparecer rapidamente da superfície do mar (gasolina, nafta, querosene, óleos leves) e persistentes, que se dissipam mais vagarosamente (óleos crus) (Tabela 3):

Tabela 3 - Classificação dos tipos de óleo quanto à persistência no ambiente.

Classificação dos tipos de óleo					
Grupo	Densidade	API	Composição	Meia Vida	Persistência
I	< 0,8	> 45	Leve	~ 24 h	1 - 2 dias
II	0,80 à 0,85	35 à 45	Leve	~ 48 h	3 - 4 dias
III	0,85 à 0,95	17,5 à 35	Pesado	~ 72 h	5 - 7 dias
IV	> 0,95	< 17,5	Pesado	~ 168 h	> 7 dias

Fonte: ITOPF 2009.

A composição relativa do petróleo e seus derivados devem sofrer diferenciadas influências depois de liberado no ambiente aquático, estando sujeito a uma série de processos físico-químicos e biológicos. Dentre eles, a dispersão, emulsificação, dissolução, biodegradação, evaporação, espalhamento, foto-oxidação e sedimentação. O que estará relacionado ao tipo de ambiente e intensidade destes com o tipo de óleo, como por exemplo, intensidade do vento, de ondas, ou tipos de substratos e o período de ocorrência de cada fator relacionado (DEHAINI, 2001).

A dispersão acontece devido às tensões turbulentas que causam a quebra da mancha de óleo em pequenas gotículas suspensas na coluna d'água facilitando o processo de emulsificação, diluição, biodegradação, sedimentação, entre outros. O estado destas gotículas de óleo em água, ou emulsões de óleo em água, é denominado emulsificação. Já a dissolução acontece em todos os compostos de hidrocarbonetos de petróleo solúveis ou que se diluem na água (ITOPF, 2009; PALADINO, 2000).

Biodegradação consiste na degradação do óleo por microorganismos (bactérias, fungos, protozoários). Este é um processo lento, mas é um dos maiores mecanismos de remoção de compostos de petróleo do ambiente (CETESB, 2009).

A evaporação corresponde à perda dos compostos mais voláteis do petróleo, estruturas químicas mais leves, para a atmosfera promovendo alteração na sua composição química (ITOPF, 2009).

O espalhamento de uma mancha de óleo corresponde à sua expansão horizontal, devido à tendência do poluente em escoar sobre si mesmo, causada pela força da gravidade e tensão superficial. Este processo influencia bastante a pluma nos momentos iniciais do derrame (PALADINO, 2000).

A foto-oxidação é o processo de degradação causado pela incidência de luz do sol, formando compostos que tendem a ser mais solúveis e tóxicos que penetram com mais facilidade na coluna d'água (CETESB, 2009).

Quase todos os óleos apresentam gravidade específica menor que 1, porém, os processos de intemperismo podem alterar as propriedades do óleo tornando-o mais denso provocando a sedimentação deste na água. A sedimentação também pode ocorrer devido a adesão de partículas de sedimento ou matéria orgânica ao óleo (CETESB, 2009).

Espalhamento, evaporação, dispersão, emulsificação e dissolução são intempéries que acontecem durante e após o derrame dos hidrocarbonetos de petróleo no ambiente. Enquanto que a foto-oxidação, biorremediação e sedimentação demoram um pouco mais até o seu início (CETESB, 2009).

Geralmente a intensidade do impacto ambiental e o tempo de recuperação tende a ser diretamente proporcional à quantidade de óleo presente em um ambiente ou local restrito. Porém, nem sempre é o que acontece, como vazamentos menores que causam impactos biológicos maiores do que os grandes derramamentos. As intempéries e as características físico-químicas dos hidrocarbonetos de petróleo também influenciam bastante sobre os efeitos sofridos pela biota devido à exposição ao ambiente impactado (CETESB, 2009; ITO PF, 2009).

Os organismos marinhos e costeiros podem sofrer com os derramamentos de hidrocarbonetos de petróleo, por efeito físico resultante do recobrimento, ou contato físico e o efeito químico, associado à toxicidade dos compostos presentes. Ambos os efeitos podem ocorrer simultaneamente em um vazamento de óleo. A diferença está voltada para a combinação entre densidade e toxicidade do óleo vazado e sua variação com o tempo. Nos óleos de alta densidade, o efeito físico de recobrimento, ou contato físico é predominante, enquanto que nos óleos de baixa densidade o efeito químico é o mais danoso (ITOPF, 2009).

Os compostos de petróleo e derivados mais solúveis e voláteis são os mais tóxicos, especialmente quando associada às frações de compostos aromáticos. O impacto químico é maior nos primeiros dias após o derramamento. Normalmente em poucos dias, a concentração de grande parte dos agentes de maior toxicidade já foi intensamente reduzida pelo intemperismo (ITOPF, 2009) (Tabela 3).

Entre os componentes mais tóxicos estão o benzeno, tolueno e xileno. Estas substâncias apresentam considerável solubilidade em água (principalmente o benzeno), o que torna os organismos marinhos mais vulneráveis uma vez que absorvem estes contaminantes pelos tecidos, brânquias, por ingestão direta da água ou de alimento contaminado. Os hidrocarbonetos de baixo peso molecular (C12 a C24) apresentam intenso efeito tóxico agudo, justamente devido à sua elevada solubilidade e consequente biodisponibilidade (GESAMP, 1993).

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos são também conhecidos como HPA ou PAH (no idioma Inglês). Sabe-se que estes compostos formados por múltiplos anéis de benzeno são mais resistentes a biodegradação microbiológica, e bastante persistentes no ambiente. São fortemente adsorvidos nos sedimentos, persistindo por muitos anos no ambiente. Alguns exemplos mais comuns de HPA presentes no petróleo e derivados são o Naftaleno, Antraceno, Fenantreno e Benzopireno e seus vários isômeros (CETESB, 2009).

Muito se conhece sobre os efeitos dos hidrocarbonetos do petróleo no ser humano, no entanto, apesar dos estudos crescentes, pouca informação está disponível sobre os efeitos específicos destas substâncias nos organismos marinhos, especialmente após acidentes envolvendo vazamento de óleo no oceano (CETESB, 2009).

3.2.2. Efeitos do derrame de petróleo e derivados em manguezal

Segundo o Ministério do Meio Ambiente – MMA (2002), o manguezal é um dos ecossistemas mais sensíveis e vulneráveis a derramamento de óleo, determinado pelo mais alto grau do Índice de Sensibilidade Ambiental (ISA), que é igual a 10 (na faixa de 1 a 10). Esta classificação é determinada de acordo com grau de exposição das ondas, inclinação e largura da faixa de entremarés, caracterização do substrato quanto ao tipo, mobilidade, penetração do óleo, trafegabilidade e biota presente no ecossistema, que são fatores determinantes para o tempo de residência e grau de impacto deste contaminante no ambiente.

Os tipos de contaminação de hidrocarbonetos de petróleo no manguezal apresentam efeitos muito particulares devido à complexidade das ações, já que são muitas as variáveis envolvidas. Após um derramamento de petróleo neste ambiente,

ocorrem alterações de suas características originais, aspectos físico-químicos e principalmente biológicos. Dentre algumas destas principais variáveis, estão os tipos e quantidades do óleo derramado (composição específica, toxicidade, tempo de permanência no ambiente), área atingida, dinâmica do ambiente (exposição à variação e fluxo de marés, insolação, dentre outras intempéries), condições hidrográficas e meteorológicas. Por exemplo, os manguezais impactados por óleo que estão menos susceptíveis a ação das ondas ou correntes, sofrerão maiores transtornos ecológicos do que as áreas mais expostas a estas intempéries. O grau de impacto no ambiente também está relacionado aos fatores de sensibilidade biológica, relacionada às espécies de organismos atingidos ou vulneráveis e época do ano (devido aos ciclos reprodutivos) (CETESB, 2009; ITOPF, 2009; FARIAS, 2006; NOAA, 2002; SLOAN, 2002).

O derrame de petróleo e/ou seus derivados podem causar sérios danos à biota em poucas semanas. Os primeiros efeitos observados são físicos, de adesão do contaminante, afetando a fisiologia dos organismos (respiração, mecanismos de exclusão do sal dos mangues), em seguida ocorrem os efeitos toxicológicos, de penetração dos agentes químicos no ser vivo relacionado à composição do hidrocarboneto. Logo, o tipo de óleo deverá influenciar significativamente quanto à toxicidade, pois quanto mais leve é o óleo, maior é o seu efeito agudo, cuja composição predominante é a de massa molecular baixa, diferentemente do óleo pesado. Os efeitos agudos são imediatos ao derramamento, enquanto que os crônicos são mais lentos e duradouros (PLAZA *et al.*, 2005; NOAA, 2002; IPIECA, 1993) (Tabela 4).

Tabela 4 - Impactos causados à biota após um derrame de petróleo no manguezal.

ESTÁGIO	IMPACTO OBSERVADO
Agudo	
0 – 15 dias	Morte de pássaros, peixes e invertebrados
15 – 30 dias	Desfolhação e morte da flora de pequeno porte (<1m) e dano à comunidade das raízes aéreas das Rizoforas.
Crônico	
30 dias – 1 ano	Desfolhação e morte da flora de médio porte (<3m)
1 ano – 10 anos?	Redução da reprodução biológica Redução da flora Redução do número de insetos
1 ano – 50 anos?	Completa recuperação?

Fonte: LEWIS (1983) *apud* NOAA (2002)

Outro sintoma complementar, observados em mangues numa área impactada por derrame de óleo é o amarelamento das folhas, que antecede a queda das mesmas e conseqüente morte destes vegetais. Há também a redução da atividade dos pneumatóforos, sufocando estas plantas, causando problemas na germinação dos propágulos, ocorrências de mutações, aumento na sensibilidade destes organismos, dentre outros estresses (NOAA, 2002) (Tabela 4).

Os animais também são muito afetados pelo óleo derramado neste ecossistema, como os grupos das aves e dos caranguejos. As aves podem sofrer efeitos imediatos, os físicos, pela impregnação dos hidrocarbonetos sobre as penas, interferindo a impermeabilização das mesmas, o que pode resultar em afogamento, visto que muitos destes seres vivos dependem deste mecanismo para se alimentarem através da caça aquática (ex.: Biguás, Martim pescador, entre outros). Quando o petróleo ou derivados alcançam o sedimento do manguezal, os caranguejos podem ter suas tocas encobertas por estes hidrocarbonetos e como conseqüência instantânea a obstrução de suas brânquias, causando asfixia destes crustáceos (Figura 6). Os efeitos secundários para a maioria da biota são químicos, ocasionando intoxicação, principalmente para óleos médios e pesados (ITOPF, 2002; NOAA, 2002; KENNISH, 1997; IPIECA, 1993).

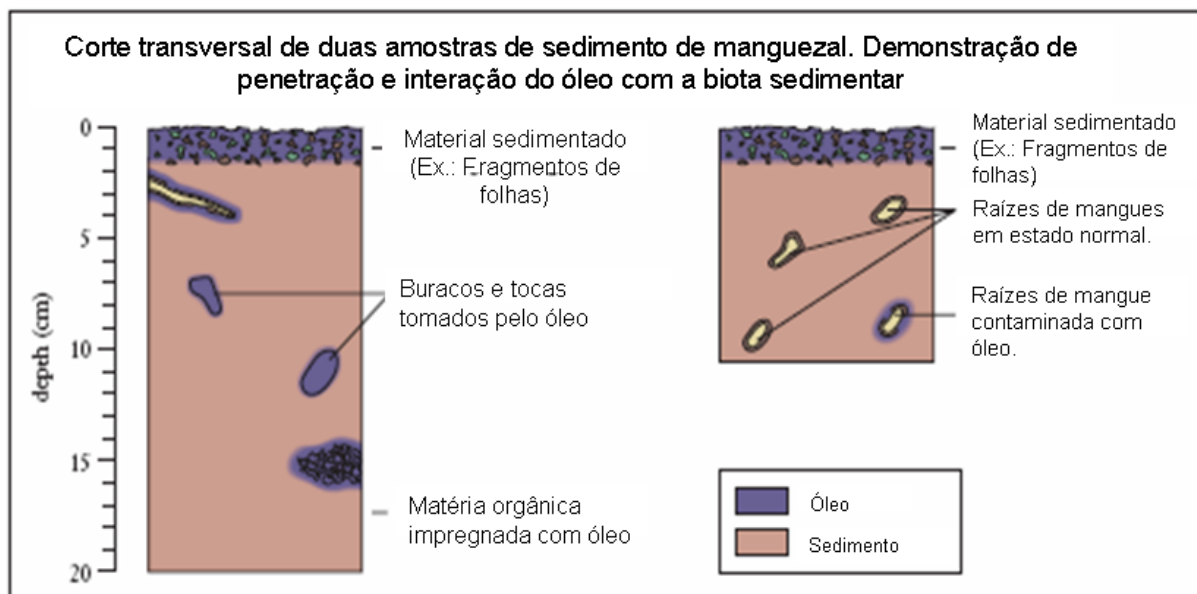


Figura 6 - Penetração e interação do óleo no sedimento de manguezal. Fonte: IPIECA (2003).

Devido à condição anóxica e saturada dos sedimentos de manguezal as taxas de degradação do óleo são bem baixas, ativando apenas as bactérias metanogênicas. (TOLOSA *et al.*, 2005; CURY, 2002).

3.2.3. Impactos por derrame de petróleo e derivados em manguezal no mundo.

São vastas as áreas de manguezais do mundo impactadas por vazamentos de petróleo e derivados, causando sérios danos à biota. Variados estudos são realizados nestes ecossistemas, procurando diagnosticar, monitorar, e às vezes até buscando soluções para uma possível recuperação destes ambientes.

Cada área atingida pode apresentar reações particulares de interação com os diferentes tipos de contaminantes e uma recuperação, em muitos casos, por tempo indeterminado. Um dos diagnósticos para averiguar impactos ao ecossistema pode ser feitos através da observação da flora do manguezal, quanto à disposição e comportamento fisiológico, que corresponde à estrutura ecológica do ambiente (Tabela 5).

Tabela 5 - Efeitos à flora de manguezal no mundo impactada por derrame de hidrocarbonetos de petróleo.

LOCAL/ANO	TIPOS DE ÓLEO	FLORA IMPACTADA	RECUPERAÇÃO DO MANGUEZAL	AUTOR DA PUBLICAÇÃO
Era, Austrália Agosto 1992	Combustível de navio	<i>Avicennia marina</i> 75-100 ha impactados	> 4 anos	Wardrop <i>et al.</i> , 1997.
Santa Augusta, US Ilhas Virgens 1971	Petróleo Bruto	<i>Rizophora mangle</i>	> 7 anos	Lewis., 1979.
Zoe Colocotronis, Porto Rico Março de 1973	Petróleo Bruto Venezuela	<i>Rizophora mangle</i> <i>Avicennia nitida</i>	> 6 anos (manguezal exposto)	Nadeau e Bergquist, 1977. Gilfillan <i>et al.</i> , 1981.
Witwater, Panamá, 1968	-	49 ha desmatados	23 anos para o manguezal exposto. > 23 anos para a parte de manguezal abrigada.	Duke <i>et al.</i> , 1997.
Bahía las Minas, Paramá Abril de 1986	Petróleo Bruto	<i>Rizophora mangle</i> <i>Laguncularia racemosa</i> <i>Avicennia germinans</i> <i>Pelliciera rizophorae</i>	> 5 anos (regiões expostas) > 6 anos (regiões abrigadas)	Guerrity., 1994. Duke <i>et al.</i> , 1997.
Roosevelt Roads NAS Novembro de 1986	Combustível de Avião	<i>Laguncularia racemosa</i> 6 ha mortos (1986)	> 1 ano	Ballow and Lewis, 1989.
Outubro de 1999		31 acres impactado (1999)	> 1,5 ano	Wilkinson <i>et al.</i> , 2001.
Baía de Tampa Agosto de 1993	Combustível Nº 2 e Nº6	<i>Avicennia germinans</i> <i>Rizophora mangle</i> <i>Laguncularia racemosa</i> 5,5 acres de óleo derramado	> 2 anos	Levings <i>et al.</i> 1995, 1997.

Fonte: NOAA (2002).

Após o derramamento de petróleo na Austrália foi observado que plantas de manguezal diminuíram drasticamente a sua produção de sementes durante 17 meses (CLARKE e WARD, 1994). Já em outras regiões a presença do óleo exerceu impacto negativo sobre a vegetação por 17 anos (BAKER *et al.*, 1993).

Relatos apontam que os manguezais de Porto Rico vieram sofrendo sucessivos derrames dos mais variados tipos de hidrocarbonetos de petróleo desde 1958. Na costa do país, La Praguera, março de 1973, houve um derrame de petróleo bruto causado pelo navio Zoe Colocotronis, que liberou para o ambiente cerca de 6.000m³. Devido a fatores como dispersão e espalhamento o óleo acabou chegando com um volume menor ao manguezal. Porém, mesmo com os esforços para mitigar

os danos, os impactos no manguezal foram grandes. Ficou constatado que as árvores de mangue vermelho e mangue preto desfolharam, e impactos às populações de crustáceos (NOAA, 2002).

Especialistas do EPA visitaram a área atingida 10 meses e 34 meses depois do acidente, assim conseguiram tomar conhecimento dos impactos a médio e longo prazo. Neste período ficou constatado que as árvores de mangue vermelho e mangue preto desfolharam, e que as populações de crustáceos começavam a se recuperar. Após esse período, apesar da biota dar sinais de recuperação, ainda existia uma alta concentração remanescente de óleo no sedimento, fortemente intemperizado e degradado. Isso sugeriu aos cientistas a degradação em cerca de seis meses dos componentes tóxicos. Somente onze anos após o derrame, em uma nova visita ao local, é que foi constatada a restauração do ecossistema e descontaminação do sedimento (NOAA, 2002).

Ainda em Porto Rico, em 1986 e 1999 ocorreram acidentes com combustíveis de avião, que estavam estocados numa estação aérea de uma base naval. Os mais grandiosos, em todos eles, foi o manguezal o mais prejudicado. Em 27 de novembro de 1986, foram 223,33m³ deste hidrocarboneto derramados em duas áreas, com total de 6ha, de manguezal atingido. Respectivamente, em 20 de outubro de 1999 houve um derramamento de aproximadamente 424m³ de querosene da base da U.S. Navy, que acidentalmente acabaram alcançando 12 ha de manguezal, causando sérios danos de toxicidade aguda a flora deste ecossistema (NOAA, 2002).

3.2.4. Impactos por derrame de petróleo e derivados em manguezal no Brasil.

Alguns dos derramamentos de hidrocarbonetos de petróleo em manguezais no Brasil constantemente estudados podem ser destacados como o ocorrido no canal da Bertioga no município de Bertioga no estado de São Paulo em 1984 e na Baía de Guanabara no ano de 2000 no Rio de Janeiro.

Em 14 de outubro de 1983, uma Empresa de Pavimentação dinamitou uma rocha na altura do km 93 da BR 101, causando o deslocamento de uma pedra de 20 toneladas que rompeu o oleoduto (da PETROBRÁS, interligando o Terminal Marítimo Almirante Barroso - TEBAR, localizado em São Sebastião à Refinaria de

Presidente Bernardes, no complexo industrial de Cubatão), causando o derrame de cerca de 2.500 toneladas ou 3,5 milhões de litros de petróleo bruto pelo Rio Iriri, despejando-o no Canal da Bertioga. Todas as praias do município, além da porção norte do Canal, próximas ao rio Iriri, foram atingidas pelo óleo estimando-se que 60 km² do litoral foram afetados, incluindo as áreas de manguezal. Uma semana após o derramamento, uma maré de sizígia aliada aos fortes ventos carregou o óleo para dentro dos estuários, praias, restingas e manguezais, elevando para cerca de 100 km² a extensão da área atingida (SANTOS *et al.*, 2007; ZARONI, 2006).

Os impactos gerados nesta região puderam ser observados pela cobertura vegetal do manguezal. Antes do derrame, havia relatos que a flora apresentava padrões normais de textura e tonalidade, que indicam estruturas de mangues desenvolvidas. Após o derrame, estes padrões se mostraram diferenciados pela presença de solo exposto entre a vegetação, uma cobertura vegetal menos uniforme, principalmente em uma área mais atingida pelo óleo, onde ocorreu mortandade total da espécie *Rizophora Mangle* (SANTOS *et al.*, 2007).

Na Baía de Guanabara, no estado do Rio de Janeiro, sofre impactos antrópicos constantemente, dos mais variados tipos de contaminantes, dentre estes o ocasionado por petróleo e derivados. Porém, além do cotidiano, o que mais chamou a atenção no mundo, tanto em área atingida, como em quantidade de produto derramado, foi o ocorrido em janeiro de 2000. Neste acidente houve o rompimento de um duto da Petrobrás localizado na baía de Guanabara próximo às margens do manguezal adjacente à REDUC (Refinaria Duque de Caxias), que liberou cerca de 1300 m³ de óleo tipo combustível marinho (MF380), uma mistura de óleo combustível pesado e diesel (UFRJ *et al.*, 2000 *apud* FARIAS, 2006). O material derramado recobriu grande área da linha de costa da Baía de Guanabara, mais intensamente na porção nordeste, região com áreas de manguezais preservadas. A maré vigente na ocasião era de sizígia, o que aumentou a área afetada, empurrando o óleo derramado para áreas mais internas das florestas de mangue (FARIAS, 2006).

3.3. MONITORAMENTO DO ECOSISTEMA MANGUEZAL

O conhecimento de um possível impacto ambiental ou alteração no manguezal pode ser dado a partir de um monitoramento do ecossistema, podendo ser percebido devido a um acúmulo de informações sobre o comportamento natural deste ambiente.

O monitoramento do ecossistema manguezal pode gerar um volume de informações muito importante na tomada de decisões como mitigar, restaurar ou atenuar os possíveis impactos ocorridos numa determinada região. As metodologias utilizadas para monitoramento do manguezal são variadas.

3.3.1. Metodologias para monitoramento de manguezal

Algumas das técnicas mais comuns utilizadas para monitorar os manguezais podem ser: o sensoriamento remoto (SIG), análises de cromatografia do sedimento de manguezal, análises físico-químicas, levantamento de espécies da fauna bentica e os ensaios ecotoxicológicos.

O Sistema de Informação Geográfica utilizados por Tulli (2007) e Lugli (2004), foram imprescindíveis para a execução de seus trabalhos. Tulli (2007) fez estudo de uso e ocupação do solo da Ilha do Lameirão, área grande de manguezal do município de Vitória e que conseguiu chegar à conclusão de que em quase 30 anos o manguezal se reconstituiu, como já mencionado e Lugli (2004) conseguiu monitorar e concluir a redução das áreas de apicum de 17 par 6 no período de 1938 a 2001 do manguezal do rio Tavares localizado em Florianópolis (SC).

São muitos os trabalhos realizados com cromatografia gasosa para monitoramento de manguezal impactado com hidrocarbonetos de petróleo. Farias (2006) fez avaliação da degradação de óleo através de biomarcadores, tipo hopanos, em sedimento de manguezal na Baía da Guanabara, logo após o derrame da REDUC, durante 4 anos e pode medir ainda concentrações altas de hidrocarbonetos aromáticos apesar de ter sofrido a degradação

Salles (2007) realizou um derrame simulado de petróleo no manguezal próximo à Ponte da Passagem para monitoramento da degradação do óleo durante um

determinado período. As avaliações foram realizadas também por meio da cromatografia gasosa, para observação da degradação dos n-alcenos e levantamento da comunidade macrobentônica da região, visando observar os efeitos do óleo nestes animais.

Outra ferramenta eficiente e bem objetiva para evidenciar impactos à biota de um ecossistema podem ser os ensaios ecotoxicológicos. Zaroni (2006) realizou ensaios ecotoxicológicos do sedimento estuarino do canal da Bertioga como parte da tríade. A tríade que além dos ensaios ecotoxicológicos agrega análises físico-químicas e levantamento da biota bentica sedimentar. Com este estudo Zaroni (2006) pôde concluir alterações no ambiente por impactos antrópicos gerados por despejos de esgotos na região.

3.3.2. Ecotoxicologia

A utilização de organismos vivos como indicadores de qualidade ambiental é uma das formas de se conhecer o estado e magnitude das ações antropogênicas, além de apontar a possível causa desses problemas. Os microrganismos, em conjunto ou em grupos isolados, contribuem de forma expressiva na detecção de impactos em ambientes poluídos e a resposta aos agentes poluidores pode ser extrapolada para todo o ecossistema, auxiliando no monitoramento e nas ações de mitigação a médio e longo prazo (MARINS, 2007; AZEVEDO E CHASIN, 2003).

Os ensaios de ecotoxicologia integram os conceitos da ecologia, seja na diversidade e representatividade dos organismos relacionada à toxicologia, que aborda os efeitos adversos dos poluentes sobre as comunidades biológicas (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008; NASCIMENTO *et al.*, 2002; PLAA, 1982).

Os efeitos tóxicos avaliados nos testes de toxicidade em laboratório podem incluir a letalidade ou imobilidade e efeitos subletais, como mudanças no desenvolvimento, crescimento, reprodução, metabolismo, fisiologia e comportamento (CETESB, 2006).

Estes efeitos medidos podem ser expressos por um critério quantificável como: número de organismos mortos, números de ovos produzidos, porcentagem de ovos eclodidos, número de jovens produzidos, mudanças no comprimento ou peso e taxa

de oxigênio consumido ou outros parâmetros metabólicos, qualitativamente por mudanças no comportamento dos organismos (CETESB, 2006).

Os resultados de ecotoxicologia podem ser expressos simplesmente como tóxicos ou não tóxicos, ou quando ocorrem diluições de um efluente, por exemplo, no intuito de avaliar pluma de dispersão num corpo hídrico, ou também para conhecer a concentração de uma substância tóxica podem ser calculadas a CL50 ou a CE50. A CL50, é uma sigla utilizada na ecotoxicologia que determina a concentração de um efluente ou de um contaminante capaz de causar letalidade de 50% dos organismos do ensaio, por isso é utilizada nos ensaios agudos. Já a CE50 é a sigla utilizada na ecotoxicologia que determina a concentração efetiva, capaz de causar danos que não seja de forma letal de 50% dos organismos, logo utilizada para ensaios crônicos (CETESB, 2006).

3.3.2.1. *Vibrio fischeri*

Vibrio fischeri é uma bactéria marinha, classificada como uma enterobactéria, Gram negativa, pertencente à família Vibrionaceae, que expressa sensibilidade ambiental através da bioluminescência, ou seja, em ambientes impactados perde a bioluminescência. Estes bioensaios de toxicidade podem ser realizados para avaliar desde a toxicidade de água contaminada, sedimentos de solo, dentre outros. Assim, o teste com *Vibrio fischeri* é bem usado emergencialmente em acidentes de derramamento de petróleo e derivados, não só pela sensibilidade e representatividade, mas pelo fato de o teste oferecer respostas rápidas (HARMEL, 2004; KNIE e LOPES, 2004; JENNINGS, 1999).

O ensaio de inibição da bioluminescência da *Vibrio fischeri* padronizado pela ISO/CD 11348:1994 *apud* Knie e Lopes (2004), é realizado com um tempo de incubação de 30 minutos. Este ensaio além de ser descrito como rápido, sensível e fácil de executar, é também um bioensaio de custo relativamente baixo, podendo ser recomendado como um valioso método de teste em controle de poluição de água. (Froehner *et al.*, 2000).



Figura 7 – Meio de cultura da bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri*.

São muitos trabalhos científicos que utilizam as bactérias bioluminescentes para monitorar um ambiente impactado. Hubalek *et al.* (2007) utilizou a *Vibrio fischeri* para monitorar a taxa de inibição da bioluminescência durante 17 meses as unidades experimentais *ex situ* contendo solo contaminado com 4% de óleo diesel.

3.3.2. Monitoramento ecotoxicológico em manguezal impactado por derramamento de hidrocarbonetos de petróleo.

A ecotoxicologia é uma das ferramentas mais adequadas para avaliar impactos à biota no sedimento de manguezal. Muitos trabalhos que avaliam a qualidade do sedimento de regiões impactadas por meio de testes de toxicidade com organismos de diferentes grupos, desde bactérias e invertebrados que compõe a macrofauna (Del Valls *et al.*, 2002 Fichet *et al.*, 1998)

Zaroni (2006) através da tríade, que tem incorporada como umas das ferramentas os testes de toxicidade, realizou análises no canal da Bertioga (SP) próximo ao local de onde teria ocorrido o vazamento de óleo em 1983, porém foram encontradas concentrações baixas de hidrocarbonetos poliaromáticos e os n-alcanos identificados não eram de origem petrogênica. Zaroni (2006) utilizou ensaios ecotoxicológicos com os crustáceos *Tiborunella viscana* e *Nitocra sp*, os embriões de ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* e os bivalves *Perna perna*.

CEZAR *et al.*, (2006) realizou ensaios de ecotoxicologia em sedimento dos estuários de São Vicente e Santos no estado de São Paulo, realizados também com *Tiborunella viscana* (ensaios agudos), onde obteve resultados de toxicidades aguda significantes e associou às altas taxas de hidrocarbonetos poliaromáticos, que são extremamente tóxicos.

Os estudos de sedimento de manguezal monitorados por ensaios ecotoxicológicos pelas bactérias bioluminescentes, *Vibrio fischeri*, são muito indicados, devido à boa resposta quanto a sensibilidade destes microorganismos (GENTER, 1996; WILLIAN *et al.*, 1986).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ÁREA DE ESTUDO

A área escolhida para realização das coletas do sedimento de manguezal para caracterização e posterior utilização nas unidades experimentais dos sistemas de atenuação natural fica localizado na Baía de Vitória, no Canal da Passagem às margens do campus da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), município de Vitória - ES. O local de coleta fica situado na latitude $20^{\circ}16'39.19''\text{S}$ e longitude $40^{\circ}18'38.12''\text{W}$ (Figura 8).

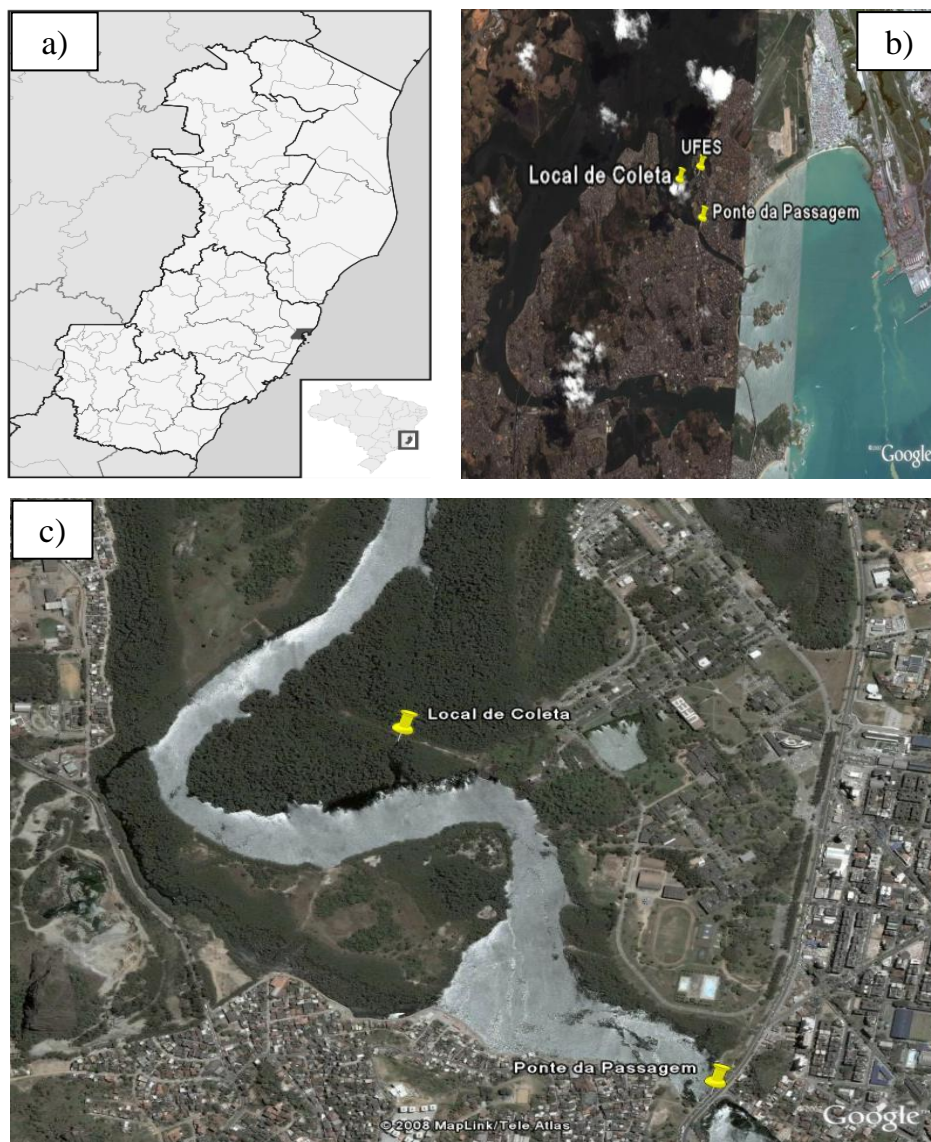


Figura 8 - Local de coleta do sedimento de manguezal. A) Mapa do estado do Espírito Santo – ES/Brasil e o município de Vitória hachurado. B) Imagem da cidade de Vitória. C) Local de Coleta.
Fonte: Google Earth

A Baía de Vitória abrange a área costeira da praia de Camburi, situada na Baía do Espírito Santo até a desembocadura do Rio Santa Maria da Vitória. O canal da passagem (atravessado pela “Ponte da Passagem” na figura 8) se estende desde a foz do canal até a região nordeste da Ilha do Lameirão, que é uma das ligações do Rio Santa Maria da Vitória com o mar.

O Canal da Passagem tem uma extensão de aproximadamente 10 km e largura na seção de saída entorno de 100 m. A profundidade do canal é variável com lugares rasos, que secam por ocasião da maré vazante, e outros onde a profundidade alcança 9 m (CASTRO, 2001).

O Canal da Passagem apresenta um padrão bem homogêneo de matéria orgânica, com valores variando entre 0 a 10%. Estes valores se devem ao fato da atuação das correntes e de maré que mobilizam os sedimentos e não favorecem a deposição e a permanência de matéria orgânica no local (D’AGOSTINI, 2005; PAIVA 1999).

4.2. COLETA

Na escolha do local de coleta (Figura 8 e 9) foram estabelecidos alguns critérios. Um deles que o sedimento estivesse exposto na maré baixa e encoberto na maré alta, limite conhecido como região de entremarés e outro que não houvesse influencias das correntes do canal, visto que estas regiões são propícias ao alcance do óleo em caso de um derramamento no ambiente aquático do estuário e as mais difíceis de atenuar ou remediar o impacto.



Figura 9 - Coleta do sedimento.

Nos procedimentos de coleta do sedimento foram definidos 3 pontos com uma distância mínima de aproximadamente 2 metros entre eles.

Utilizando uma pá de metal foi retirada apenas uma parte superficial do sedimento, numa profundidade de 10 a 15 centímetros. Em seguida as três amostras foram homogeneizadas juntas num recipiente de vidro, para a formação de uma amostra composta. Posteriormente as amostras foram levadas ao laboratório (LABSAN-UFES) para serem submetidas às análises físico-químicas.

4.3. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SEDIMENTO DE MANGUEZAL

As amostras de sedimento de manguezal foram analisadas segundo APHA (1995) e ABNT para os seguintes parâmetros: temperatura, pH, salinidade, condutividade, granulometria, teor de umidade do sedimento, peso da matéria seca do sedimento, teor de matéria orgânica, determinação de massa específica do sedimento (densidade do sedimento), fósforo total, nitrogênio Kjeldahl e nitrogênio amoniacal.

Para as análises de fósforo total, nitrogênio Kjeldahl e nitrogênio amoniacal (APHA, 1995), foram utilizadas metodologias aplicadas à água com algumas adaptações.

Após as coletas, foram pesados 50g de sedimento *in natura* e diluídos inicialmente para 450ml de água destilada, obtendo assim uma solução estoque. Sempre que possível foram feitas outras diluições com água destilada priorizando a precisão dos resultados para cada um destes parâmetros.

4.3.1. Temperatura, pH, salinidade e condutividade (APHA, 1995)

A condutividade (Condutímetro da marca Jenco Eletronics LTD; Modelo: 1671), aferida no laboratório (LABSAN-UFES), temperatura (Termômetro vareta digital portátil MINIPA; Modelo: MV-360) pH (pHmetro da marca Onda Científica LTDA; Modelo: TCB01) e salinidade (Refratômetro da marca Instrutherm; Modelo: RT-30ATC) foram parâmetros medidos em campo com data, hora da coleta e determinação da maré (de acordo com a tábua de marés) (DHN, 2009). Para medida da temperatura foi utilizado termômetro de solo e para pH, salinidade e condutividade, as medidas foram realizadas na água intersticial, pelo pHmetro, refratômetro e condutímetro.

4.3.2. Granulometria (NBR 7181:1984)

Primeiramente o sedimento coletado passou por um procedimento de lavagem, foi enxaguado num recipiente com água doce para retirada dos sais, em seguida repousou de um dia para o outro. A água sobrenadante foi retirada através de sifonamento do sobrenadante, este procedimento foi repetido por duas vezes. Após a lavagem, a amostra foi colocada em estufa, com temperatura em torno de 60^o C, até secar. Depois a amostra foi dividida em duas partes por meio do quarteamento, até adquirir uma quantidade desejada, através do quarteador de Jones (CUNHA e GUERRA, 1996). Posteriormente foi feita a pesagem para separação das frações grossas da fina em uma peneira com malha de 0,062 μm (4 ϕ) de espessura para obtenção do teor de silte e argila do sedimento. Com o sedimento retido na peneira (fração grossa), foi feita uma nova pesagem, onde a partir da diferença de peso inicial e final foi obtido o teor de silte e argila no sedimento. Além disso, através dos pesos retidos em cada peneira foi possível obter a classificação quanto aos

tamanhos dos grãos. Esta análise foi realizada no laboratório do Departamento de Oceanografia e Ecologia da Universidade Federal do Espírito Santo – DERN/UFES.

4.3.3. Teor de umidade do sedimento/Peso da matéria seca do sedimento (NBR 6457:1986)

Cerca de 50g de sedimento úmido foi pesado em cápsula de porcelana para ser levada para estufa a aproximadamente 65 °C por um período de 16 a 24 horas. Logo, foi possível obter o peso da matéria seca do sedimento e o teor de umidade do sedimento através da diferença de peso inicial.

4.3.4. Teor de matéria orgânica (NBR13600:1996)

Inicialmente foi pesada uma amostra de matéria seca do sedimento (NBR 6457), em cápsula de porcelana, que foi levada à mufla com temperatura aproximada de 440°C por 12 horas. Em seguida a cápsula foi pesada para obtenção do peso final. Calculando a diferença entre o peso inicial (matéria seca do sedimento) com o peso final, foi possível encontrar o teor da matéria orgânica perdida no processo de queima.

4.3.5. Determinação de massa específica dos grãos do sedimento (densidade do sedimento) (NBR 6508:1984).

A massa específica do sedimento pôde ser calculada relacionada à massa específica da água, assim foi preciso levar em consideração a massa úmida do sedimento, conseqüentemente a umidade do sedimento, a massa do picnômetro com sedimento e água e o picnômetro somente com água, lembrando que os picnômetros foram correlacionados pela temperatura a cada etapa do ensaio.

Logo, para alcançar os resultados pretendidos destes parâmetros, foi pesado cerca de 40g de sedimento úmido, que foram bem misturados com água destilada no copo de dispersão. Depois estes seguiram para 4 picnômetros, que em banho-maria

foram completados com água destilada gradualmente até atingir o nível estabelecido nos mesmos (marca de referência), tendo o cuidado de evitar microbolhas de ar entre os grãos do sedimento. Em seguida os picnômetros somente com água destilada e os picnômetros com sedimento e água foram pesados a temperatura ambiente. Por fim, cada amostra contida em cada picnômetro foi adicionada em recipientes tarados para serem secadas em estufa a 65 °C, para obtenção do peso da matéria seca do sedimento (NBR 6457). Esta análise ocorreu no Laboratório de Solos no Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal do Espírito Santo.

4.3.6. Fósforo total (APHA, 1995)

Para medir o fósforo total da amostra, foram adicionados 100 ml da solução estoque (solubilizado da amostra sedimentar) em um erlenmeyer de 250 ml. Em seguida adicionado 1 ml de ácido sulfúrico concentrado e 5 ml de ácido nítrico concentrado e digerido na chapa até aproximadamente 1 ml ou até toda a remoção do ácido nítrico (fumos brancos). Algumas vezes a amostra ainda se apresentou escura, tendo a necessidade de realizar um novo ataque com ácido nítrico.

Após o resfriamento da amostra, adicionou-se 20 ml de água destilada, 1 gota de fenolftaleína 1% sob agitação e junto pingou-se gradativamente hidróxido de sódio 1N até a viragem para a cor rosa. Em seguida amostra foi transferida para um balão de 100 ml atravessando um filtro de celulose, faixa preta, sobre um funil de vidro, até aferir o volume exato do balão com água destilada.

50 ml da amostra no balão foram transferidas para um erlenmeyer de 250 ml. No erlenmeyer adicionou-se uma solução de ácido sulfúrico 5N até o desaparecimento da cor rosada, para a adição de 8 ml do reagente combinado, seguida de uma leve agitação. Seguiu-se a leitura em 880 nm, entre 10 e 30 min, no espectrofotômetro, quando algumas amostras apresentaram cor azulada indicando reação pela presença do fósforo.

4.3.7. Nitrogênio Kjeldahl (APHA, 1995)

Em um erlenmeyer de 250 ml contendo 50 ml da amostra estoque (solubilizado da amostra sedimentar), adicionou-se cuidadosamente 10 ml do reagente digestor para a chapa aquecedora até que evaporasse quase toda a solução, deixando cerca de 1 ml. Em algumas vezes quando amostra se apresentou escura foi preciso fazer novas adições de solução digestora e voltar ao processo até o clareamento da mesma (chegando a ponto de bala, verde claro com aspecto cristalizado). Após o resfriamento adicionou-se quantitativamente 50 ml de água, agitando até dissolver todo o ponto de “bala”. Em seguida adicionou-se 10 ml de reagente Tiosulfato – Hidróxido de Sódio na amostra que colocada no destilador de proteína (da marca Nova Técnica; Modelo NT415) e em seguida coletado no cálice de 125 ml, com 5 ml de solução absorvente (ácido bórico). Por fim a adição de 2 ml de reagente Nessler para realização da leitura no espectrofotômetro entre 10 e 30 minutos, no comprimento de onda de 420 nm, de todo o nitrogênio orgânico disponível (que é todo o nitrogênio orgânico transformado em nitrogênio amoniacal).

4.3.8. Nitrogênio amoniacal (APHA, 1995)

A partir de 50 ml da amostra estoque ou sedimento diluído, adicionou-se 2 ml de tampão borato e ajustou-se o pH para $\pm 9,5$. A amostra foi destilada e coletada 50 ml no destilador de proteínas (da marca Nova Técnica; Modelo NT415) sob superfície de 5 ml de solução absorvente (ácido bórico) contida em um cálice de 125 ml. Após a coleta adicionou-se 2 ml de reagente Nessler e em seguida foi realizada a leitura entre 10 e 30 minutos, no espectrofotômetro também no comprimento de onda de 420 nm. Princípio final é similar à medição do nitrogênio Kjeldahl, a diferença é que não houve transformação, ou digestão de outros tipos de nitrogênio orgânico em nitrogênio amoniacal, que já estava disponível na amostra.

4.4. DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA PARA SIMULAÇÃO EX SITU DE DERRAME DE HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

A realização do monitoramento do sedimento de manguezal contaminado com hidrocarbonetos de petróleo ocorreu fora do ambiente natural, primeiramente pelo fato evitar um impacto experimental no ecossistema e depois, por este motivo proporcionou a criação de uma ferramenta que simulasse estas condições de forma controlada, possibilitando experimentações de contaminantes com o sedimento, visando desenvolvimento de estudos para tratamentos destes locais com mais eficiência e menos impacto.

Em até três meses, foi realizado o monitoramento por ensaios de ecotoxicologia do sedimento de manguezal contaminado com petróleo e suas frações em unidades experimentais, após um derrame simulado.

As simulações de contaminação de amostras de sedimento de manguezal com os hidrocarbonetos de petróleo ocorreram em duas etapas. A primeira, preliminar, em um tipo de unidade experimental desenvolvido com vaso de 5 litros e a segunda, a definitiva, em um tipo de unidade experimental elaborada com recipiente de alumínio de 300mL acondicionado dentro de um outro recipientes de Politereftalato de ETileno (garrafa PET) com cerca de 1 litro de capacidade, Lata/PET.

O que justifica a mudança de recipientes, do experimento preliminar ao definitivo, foi ao fato da necessidade de se obter amostra homogênea, visto que o sedimento no recipiente de alumínio era todo homogeneizado antes de ser processado para o elutriato, diferentemente dos experimentos em vaso. Outro fator importante, para adaptação do recipiente Lata/PET, foi controlar ou manter a saturação com água do sedimento de manguezal, como encontrado no ambiente natural.

Todas as unidades experimentais foram mantidas em estantes de metal, que foram cobertas com sombrite para evitar interferência de pequenos animais, em local sombreado, protegido da chuva e expostas a temperatura e ar natural. Estas estantes foram acondicionadas dentro da Estação de Tratamento de Efluentes da Universidade Federal do Espírito Santo – ETE/UFES (Figuras 10 e 11).

4.4.1. Petróleo bruto e suas frações utilizadas nos experimentos

Os hidrocarbonetos de petróleo utilizados nos experimentos foram gentilmente doados pelo Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Metodologias para Análises de Petróleo/Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo (LABPETRO/DQUI-UFES), com as devidas caracterizações físico-químicas (Tabela 6 e 7).

Tabela 6 - Caracterização físico-química do petróleo bruto.

Petróleo 16,9°API (AM 736)	
Densidade a 20°C	0,9496
Viscosidade a 40°C	524,66
Sal (ppm)	862,099
Ácido (mgKOH/g amostra)	2,9203

Tabela 7 - Caracterização físico-química das frações provenientes do petróleo bruto

Frações do Petróleo 16,9°API (AM 736)						
Código	Fração	Densidade a 20°C (g/cm³)	°API a 20°C	Viscosidade a 20°C (cm³/s)	Teor de enxofre 10⁻⁴ (%m/m)	Ponto de Destilação (°C)
FD5	2	0,8184	40,6	1,5391	388,86	164-207
FD7	6	0,8835	28	9,2932	2324,812	288-300
FD2	12	0,9342	19,4	232,25	4367,612	388-400

O Petróleo Bruto 16,9°API, é caracterizado como um óleo pesado, segundo escala formalizada pelo Instituto Americano de Petróleo (API), por apresentar-se abaixo de 20°API. Este também foi caracterizado quanto à viscosidade, salinidade e acidez (Tabela 6).

As frações destacadas na tabela 7 foram provenientes do mesmo petróleo bruto 16,9°API da tabela 6, no total de três frações, uma pesada, uma média e uma leve.

Estas são destiladas por pontos diferentes de ebulição, determinadas pela temperatura. Cada fração apresentou aspectos bem particulares, que vão dos resultados físico-químicos à textura visual e olfativa. Sendo assim, foi possível comparar e aproximar estas frações aos produtos derivados de petróleo que passam por processos industriais semelhantes.

Fração 12 (FD2) 19,4°API é um óleo pesado, por estar na faixa de 10 a 20 °API, de acordo com o Instituto Americano de Petróleo (API). O ponto de destilação apresentou-se na faixa do derivado de petróleo óleo lubrificante (Tabela 2). A aparência deste hidrocarboneto também se assemelha a este derivado comercializado pelo aspecto denso, pela cor amarelada escura e o cheiro que só é possível sentir a uma pequena distância.

A fração 6 (FD7) 28 °API é um óleo médio, por apresentar o grau API entre 20 e 30, conforme o Instituto Americano de Petróleo (API). Este apresentou o ponto de destilação mais próximo ao diesel, apesar de sua cor não ser semelhante ao diesel, um azul quase roxo. Porém a densidade aparentemente observada é parecida com este tipo de combustível. Também apresenta um cheiro um pouco mais forte do que a fração 12.

A fração 2 (FD5) 40,6°API se caracteriza como leve, segundo o Instituto Americano de Petróleo (API) por estar acima de 30°API. Sua viscosidade, densidade e teor de enxofre, foram os mais baixos e o API como é inversamente proporcional, foi o mais alto. Seu ponto de destilação se assemelha ao querosene (Tabela 2). É uma solução transparente e tem um cheiro semelhante de querosene que podia ser sentido a uma distância maior que as demais frações, devido à alta volatilidade. Com isso, certamente esta fração é composta em sua grande maioria por hidrocarbonetos aromáticos (CETESB, 2009; PLAZA *et al.*, 2005; NOAA, 2002; GESAMP, KENNISH, 1997 1993).

4.4.2. Experimento preliminar (unidade experimental em vaso)

A primeira unidade experimental do trabalho elaborada para monitoramento de derrame simulado dos hidrocarbonetos de petróleo em sedimento de manguezal foram os vasos com capacidade para 5 litros. Em cada um destes recipientes foram

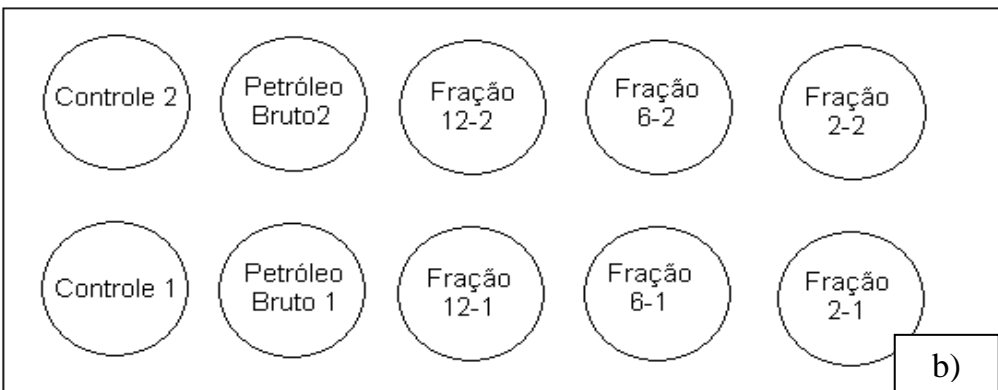
adicionados 3 kg de sedimento de manguezal e em cada vaso foram adicionados cuidadosamente sobre sua superfície 5% (Peso) de seus respectivos hidrocarbonetos de petróleo (Tabela 6 e 7), exceto o controle. No total foram quatro tipos de hidrocarbonetos de petróleo (Tabela 6 e 7), Petróleo Bruto, Frações 12, 6 e 2, com duas réplicas para cada tipo de óleo.

Contando com o controle, foram obtidas 10 unidades experimentais em vaso, Controle 1 e 2, Petróleo Bruto 1 e 2, Fração 12 - 1 e 2, Fração 6 – 1 e 2 e Fração 2 – 1 e 2 (Figura 10).

A cada 2 dias na semana os vasos eram molhados com aproximadamente 5% de água destilada, visando manter a umidade do sedimento, como no ambiente de origem.



a)



b)

Figura 10 – Unidades experimentais em vasos. a) Fotografia do local de exposição das unidades experimentais em vaso. b) Desenho de esquematização da disposição das unidades experimentais.

4.4.3. Experimento definitivo (unidade experimental Lata/PET)

Com base no monitoramento *ex situ* por ensaios ecotoxicológicos nas unidades experimentais em vaso, foram propostas melhorias visando uma aproximação ao ambiente natural de manguezal. Também houve uma preocupação em buscar um meio que houvesse menos interferência de amostragem quanto à concentração do contaminante sobre o sedimento, antecedente aos ensaios ecotoxicológicos, com o objetivo de dar mais precisão aos resultados, pois neste tipo de unidade experimental em cada tratamento o sedimento pôde ser homogeneizado antes de ser iniciado o processo de solubilização das amostras.

A estrutura física destas unidades experimentais foi elaborada com material reciclável à base de recipiente de alumínio de 350 ml e recipiente de Politereftalato de Etileno, proveniente de garrafa PET de 2L, que foram cortadas ao meio, logo com aproximadamente 1L de capacidade máxima de volume. Ao fundo de cada recipiente de alumínio de 350mL foi feito um pequeno orifício e sobre este foi aderida uma tira de filtro de celulose na parte externa, para evitar a perda de material e dar passagem apenas para entrada da água na lata (Figura 11 – a e b).



Figura 11 – Unidade experimental Lata/PET. a) Garrafa pet de 2L e lata de alumínio de 350ml. b) Garrafa e lata cortadas. c) Lata dentro da pet com água destilada.d) Unidade experimental instalada na prateleira de metal com experimento em andamento.

No experimento definitivo, em cada recipiente de alumínio preenchido com 100g de sedimento de manguezal foi determinado como controle, e para os demais recipientes foram preenchidos com 95g de sedimento de manguezal e mais 5g (ou 5% do contaminante) com seus respectivos hidrocarbonetos de petróleo sobre a superfície do sedimento (Tabelas 6 e 7). Em seguida, cada recipiente de alumínio foi acondicionado dentro do recipiente de Politereftalato de Etileno (PET) com água destilada no mesmo nível ou um pouco acima, para manter a pressão hídrica para saturação de água do sedimento (Figura 11 – c).

Para assegurar que estas unidades experimentais Lata/PET, contendo sedimento de manguezal na Lata com água destilada na garrafa PET, estivessem simulando algumas condições do ambiente natural do ecossistema, foram feitos dois monitoramentos de quase um mês cada, em períodos diferentes, quanto à saturação de água no sedimento, que foi determinado através de uma marca externa da lata, referente à superfície do sedimento, para servir de limite para reposição com água destilada feitas duas vezes por semana. A escolha da água destilada, ao invés da água salobra se deve ao fato de que a água salobra acumula os sais nas unidades experimentais à medida que ocorre após a evaporação da água, diferentemente do uso da água destilada que resulta na estabilidade da salinidade. Dos parâmetros físico-químicos foram medidas também ausência de oxigênio, pH, salinidade e temperatura da água intersticial (SILVA *et al.*, 2005; LUGLI, 2004; BISINOTI, 2002; ROSSI e MATTOS, 2002; ODUM, 1985).

A distribuição das unidades experimentais, denominadas Lata/PET, foram preparadas em duplicatas, como no experimento anterior, de acordo com os tipos de hidrocarbonetos citados nas tabelas 6 e 7 (Petróleo Bruto 1 e 2, Fração 12 - 1 e 2, Fração 6 - 1 e 2 e Fração 2 - 1 e 2 além dos controles 1 e 2), porém como o monitoramento dos experimentos duraria três meses e haveria retirada de duplicatas de cada tipo de amostra em cada mês, contando com o primeiro dia (dia da contaminação) somaram 40 unidades experimentais Lata/PET (Figura 11 - d, Figura 12 e 13).









































	Derrame 18/8/2008		1º Mês 15/9/2008		2º Mês 13/10/2008		3º Mês 10/11/2008	
CONTROLE								
PETRÓLEO BRUTO								
FRAÇÃO 12								
FRAÇÃO 6								
FRAÇÃO 2								
	1	2	1	2	1	2	1	2

Figura 12 - Distribuição das unidades experimentais Lata/PET contendo sedimento com seus respectivos contaminantes ilustrando os dias de retirada das prateleiras para congelamento no freezer a -80°C.



Figura 13 - Distribuição das unidades experimentais Lata/PET sobre as prateleiras no ambiente de experimentação (ETE).

4.5. MONITORAMENTO POR ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS PRELIMINARES E DEFINITIVOS DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS

Após a instalação das unidades experimentais em vaso e em Lata/PET nas prateleiras, em períodos diferentes, foram realizados testes de toxicidade para avaliar os possíveis impactos à biota do sedimento contaminado com petróleo bruto e suas frações.

O período de monitoramento das unidades experimentais em vaso transcorreu do dia 18/03/2008 ao dia 25/04/2009, com ensaios ecotoxicológicos com *Vibrio fischeri* realizados em seis semanas. Na retirada de amostras, foi usada uma espátula de metal inox para perfuração em três partes diferentes de cada unidade experimental e adicionadas cerca de 100g em recipientes de vidro para homogeneização e obtenção de uma amostragem composta.

Para monitoramento de testes de toxicidade das unidades experimentais Lata/PET, foram realizados durante um período de três meses, iniciado no dia 18/08/2008 e terminado no dia 10/11/2008. Antes dos ensaios ecotoxicológicos com *Vibrio fischeri* cada unidade experimental foi descongelada a temperatura ambiente, com um dia de antecedência e em seguida seu sedimento com ou sem contaminante foi homogeneizado para ser solubilizado (KNIE E LOPES, 2004).

Para realização de cada ensaio ecotoxicológico com estes organismos aquáticos, foram realizadas de solubilizações das amostras dos sedimentos, com o método baseado no proposto por Knie e Lopes (2004).

4.5.1. Ensaio ecotoxicológico

Os ensaios ecotoxicológicos com *Vibrio fischeri* das unidades experimentais em vaso e das unidades experimentais em Lata/PET foram realizados no Laboratório de Saneamento Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo – LABSAN/UFES. Somente os ensaios com *Vibrio fischeri* das unidades experimentais Lata/PET ocorreram no laboratório do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos – IEMA.

4.5.1.1. Solubilização das amostras de sedimento para as análises ecotoxicológicas (KNIE e LOPES, 2004)

As amostras dos experimentos preliminares, obtidas das unidades experimentais em vaso, foram provenientes de 3 sub amostras, para obtenção de uma amostra composta. As amostras dos experimentos definitivos, provenientes das unidades experimentais Lata/PET, foram congeladas no freezer a - 80°C, nas datas determinadas de retirada das amostras (Figura 12) e descongeladas a temperatura ambiente, de um dia para o outro.

Para solubilização das amostras provenientes dos ensaios preliminares e definitivos, referentes as unidades experimentais em vaso e dos recipientes Lata/PET, foram pesadas 12,5g para 50 mL, pois só foi feito ensaio com a *Vibrio fischeri*. Ou seja, os processos de elutriato foram feitos na proporção 1:4 de sedimento em água. Em seguida estes erlenmeyers foram colocados sob agitação no shaker a temperatura ambiente por 30 min e depois foram colocados em repouso para decantação por uma hora. Logo se transferiu o sobrenadante para os tubos de 50 mL que foram centrifugados a 3.000 rpm por 30 min a temperatura ambiente. Obtida a separação dos sólidos, o sobrenadante foi filtrado com filtro de fibra de vidro de 0,45 µm da marca Millipore.

Por fim mediu-se a turbidez, a qual deve ser de no máximo 50 NTU (Unidades Nefelométrica de Turbidez), pois pode interferir nos resultados obtidos dos ensaios com as bactérias luminescentes. O pH também foi medido e ajustado para $8,0 \pm 0,5$, quando preciso, para que atendesse as mesmas condições dos dois testes.

Para avaliação ecotoxicológica das unidades experimentais Lata/PET, com este solubilizado preparado, uma pequena parte com cerca de 25 ml desta amostra foi utilizada para o ensaio de ecotoxicologia com *Vibrio fischeri*.

4.5.1.2. *Vibrio fischeri*

Para execução dos ensaios ecotoxicológicos agudos com a *Vibrio fischeri*, foi utilizado o equipamento Lumistox 300 acoplado a um computador (Figura 14), com a

capacidade para medir a bioluminescência das bactérias. O termobloco também é um aparelho ligado ao Lumistox 300, que acondiciona as bactérias a uma temperatura de 15°C, ideal para realização dos ensaios.



Figura 14 - Lumistox 300 no meio do termobloco e do computador.

As condições do organismo teste e materiais usados foram: as bactérias liofilizadas provenientes da empresa Biolux com a respectiva solução de ressuspensão, cubetas de vidro com capacidade aproximada de 5 ml, micropipetas com ponteiras, sulfato de zinco ($ZnSO_4$), sal ($NaCl$) e por fim as amostras solubilizadas provenientes das unidades experimentais.

Todo material utilizado no teste, principalmente as cubetas, foram previamente lavados colocados de molho por 24 horas no detergente alcalino extran a 5%, depois mais 24 horas no ácido nítrico a 5% e em seguida enxaguado com água destilada. As ponteiras usadas foram descartáveis (CETESB, 2006).

De acordo com o método descrito por Knie e Lopes (2004), antes de iniciar o teste definitivo foi realizado um teste de sensibilidade com uma solução de sulfato de zinco a 22,75 mg/L como substância de referência. Estas foram distribuídas em duplicatas e diluídas de forma geométrica nas cubetas já ambientadas por 10 minutos. Neste mesmo tempo também foi feita a ambientação com as bactérias que

estavam liofilizadas e foram reativadas. Em seguida foram feitas a adição das bactérias bioluminescentes em cada uma das cubetas fazendo-se as leituras iniciais no lumistox e em seguida retornando-as ao termobloco que repousaram por 30 minutos até a leitura final, para encontrar a concentração efetiva em 50% nas bactérias (CE50).

O procedimento para leitura do ensaio definitivo é o mesmo do teste de sensibilidade, a diferença é que foram utilizadas as amostras solubilizadas referentes a cada experimento ao invés da substância de referência de sulfato de zinco. A outra diferença é que não foi avaliada a concentração efetiva a 50% (CE50), apenas o percentual de toxicidade de cada amostra solubilizada.



Figura 15 - Amostras solubilizadas.

Os resultados foram apresentados através dos laudos gerados pelo Lumisoft, programa instalado no computador ligado ao aparelho Lumistox 300, que determina o percentual de inibição das bactérias pela bioluminescência.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O programa usado para calcular as médias, desvios-padrão e construção dos gráficos, foi Microsoft Office Excel 2007. Estes cálculos estatísticos foram realizados para caracterização físico-química do sedimento de manguezal, resultados ecotoxicológicos das unidades experimentais e monitoramento físico-químicos das unidades experimentais Lata/PET.

Nos resultados ecotoxicológicos obtidos com *Vibrio fischeri* tanto para as unidades experimentais em vaso quanto para as unidades experimentais Lata/PET, foram gerados gráficos que também foram avaliadas a regressão linear, representados pela reta indicando sua tendência, fórmula e a confiabilidade da regressão (R^2).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram apresentados quanto à caracterização físico-química do sedimento de manguezal, ao monitoramento com ensaios de toxicidade aguda da *Vibrio fischeri* do sedimento contaminado com hidrocarbonetos de petróleo das unidades experimentais em vaso ocorridos em mais de um mês. O monitoramento do sedimento de manguezal nas unidades experimentais Lata/PET foram monitorados físico-quimicamente e em outro período, com interação dos contaminantes (Petróleo e suas frações), através de ensaios ecotoxicológicos com *Vibrio fischeri*.

5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SEDIMENTO DE MANGUEZAL

Todos os resultados obtidos de caracterização físico-química dos sedimentos de manguezal coletados na área de estudo referentes às cinco campanhas estão apresentados em resumo na tabela 8.

Porém, vale ressaltar que algumas análises não foram realizadas em alguns meses por questões de suporte laboratorial devido à falta de instrumentos ou reagentes, impossibilitando as análises no período máximo determinado pelas boas práticas laboratoriais de cada parâmetro (CETESB, 1987).

Tabela 8 - Caracterização físico-química do sedimento de manguezal realizada mensalmente em cinco campanhas do ano de 2007 e 2008 no “ponto de coleta” determinado.

Campanhas		15/10/2007	24/11/2007	10/12/2007	08/01/2008	11/02/2008	Média	Desv. Padrão
Parâmetros		(12:20 hrs)	(11:00 hrs)	(10:10 hrs)	(09:00 hrs)	(11:20 hrs)		
Tábua de marés		0,4	0,2	0,4	0,4	0,4	-	-
Temperatura (°C)		27,6	26,2	27,0	26,0	28,0	27,0	0,8
pH		7,05	8,07	7,68	6,82	7,63	7,45	0,50
Salinidade		33	25	27	32	21	28	5
Condutividade (mS/cm)		-	-	51,90	56,50	46,80	51,73	4,85
Teor de umidade do solo (Sat.)(%)		43,62	58,05	47,41	-	57,76	51,71	7,32
Peso da mat. seca do sedim. (%)		56,38	41,95	52,59	-	42,27	48,29	7,31
Teor de matéria orgânica (%)		7,31	16,99	12,86	-	7,12	11,07	4,75
Granulometria	Areia (%)	48	-	-	-	-	48	-
	Silte e Argila (%)	52	-	-	-	-	52	-
Densidade do sedimento (g/cm ³)		-	-	2,52	-	-	2,52	-
Fósforo (mg/Kg)		-	151,36	128,29	-	110,31	129,99	20,57
Nitrogênio Kjeldahl (mg/Kg)		-	531,66	627,40	-	681,79	613,62	76,00
Nitrogênio Amoniacal (mg/Kg)		-	118,25	44,23	-	283,86	148,78	122,69

Em todas as 5 campanhas as coletas foram realizadas com uma maré de 0,4 m exceto em um dia onde a maré foi apresentada com 0,2 m (DHN, 2009). Todos estes dias estavam ensolarados e com temperaturas muito similares.

O pH oscilou pouco entre as coletas e manteve uma média próxima a neutralidade. Diferentemente, a salinidade oscilou bastante, o que é comum nos ambientes estuarinos, acompanhando os resultados medidos e apresentados pela condutividade. Mesmo faltando resultados em alguns meses o desvio-padrão da condutividade apresentou valores semelhantes ao da salinidade.

O sedimento de manguezal, apresentou saturação média de mais da metade (51,71%) de água referente a todas as campanhas em relação ao percentual total da matéria, sendo o teor mais alto de 58,05% e o mais baixo de 43,62%, demonstrando a alta capacidade de absorver a água devido à sua composição sedimentar combinada a outros materiais minerais.

A granulometria e a densidade do sedimento mesmo apresentando uma análise referente a uma campanha, foram suficientes para caracterização, já que não foi observada nenhuma mudança da estrutura do mesmo local no espaço de tempo determinado em todas as campanhas realizadas para as demais análises físico-químicas.

O teor de matéria orgânica apresentou uma média de 11,07% e um valor máximo de 16,99% e mínimo de 7,12%. Paiva (1999) realizou análises de matéria orgânica do sedimento por esta região e chegou à conclusão de que valores com 15% acima da média. Dias (2005) também realizou análises de matéria orgânica na região, com os pontos ao lado da Ponte da Passagem e chegou a obter o valor de 33,98%.

Os resultados de fósforo total apresentaram-se próximos aos encontrados por Rossi e Mattos (2002) em uma das análises do trabalho realizado no canal da Bertioga, em Santos-SP de 94 mg/kg. Porém Dias (2005) encontrou uma média de até 3344,73 mg/kg de fósforo total no sedimento no Canal da Passagem.

Para nitrogênio orgânico total (nitrogênio Kjeldahl), foi obtida uma média de 613,62 mg/kg, com um desvio-padrão de 76,00 mg/kg, menor que os demais parâmetros, apresentando um valor bem abaixo do obtido por Dias (2005), que teve uma média de 9766,50 mg/kg do sedimento.

O Nitrogênio amoniacal além de apresentar um valor médio alto de 148,78 mg/kg, oscilou bastante, mais de 80% com desvio padrão de 122,68 mg/kg.

5.2. MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO PRELIMINAR COM *VIBRIO FISCHERI*

Os resultados de ecotoxicologia preliminares com a bactéria bioluminescente, *Vibrio fischeri*, de derrame simulado de hidrocarbonetos de petróleo em unidades experimentais em vaso estão apresentados na tabela 9 e figura 16.

Tabela 9 - Avaliação estatística das taxas percentuais de inibição da bioluminescência da *Vibrio fischeri* em ensaios com sedimentos das unidades experimentais em vaso no período de cinco semanas.

Tratamentos	Derrame	1ª) Semana	2ª) Semana	3ª) Semana	4ª) Semana	5ª) Semana
	20/03/2008	28/03/2008	04/04/2008	11/04/2008	17/04/2008	25/04/2008
Controle	3,05	0,23	13,34	0,00	7,6	-0,61
Desv.P.	-	18,11	-	-	6,75	4,43
Petróleo	34,4	27,63	21,97	19,91	28,7	33,11
Desv.P.	1,17	5,7	10,78	1,85	2,28	6,43
Fração 12	22,96	5,71	14,67	0,00	18,21	29,03
Desv.P.	2,16	0,37	12,92	12,5	8,92	19,16
Fração 6	41,13	29,7	37,17	20,82	33,04	23,1
Desv.P.	1,99	14,87	1,57	16,52	5,83	24,13
Fração 2	81,12	52,03	66,16	46	55,78	12,58
Desv.P.	1,53	2,56	7,74	5,31	0,08	4

A toxicidade aguda dos controles foram muito baixas ou quase nulas. Para todas as unidades experimentais contaminadas com os hidrocarbonetos de petróleo foram apresentadas toxicidade aguda significativa logo na primeira análise (20/03/2008).

No vaso com sedimento contaminado com petróleo bruto a toxicidade aguda oscilou durante o período de experimentação apresentando significância na primeira análise (20/03/2008), na terceira semana (11/04/2008) e na última análise (25/04/2008).

No sedimento contendo a fração 12 foi apresentada toxicidade mais alta no primeiro dia. Assim como no sedimento contaminado com petróleo bruto a taxa de inibição da bioluminescência também oscilou, chegando a uma toxicidade mais alta na última análise, apesar da variação determinada pelo desvio padrão de 19,16%.

A unidade experimental que simulou o derrame com a fração 6 apresentou toxicidade mais alta para o primeiro ensaio, com oscilações da taxa de inibição da bioluminescência das bactérias durante o monitoramento ecotoxicológico. As maiores variações toxicológicas aguda, se comparando a todas as unidades experimentais, estiveram presentes no sedimento contido nos vasos com a fração 6, refletidos pelos valores altos do desvio padrão. De forma similar a este resultado, já

que esta fração apresenta características próximas ao diesel, Hubálek *et al.* (2007) realizou um derrame simulado de 4% de óleo diesel em 200Kg de solo, diferente do sedimento de manguezal, num período de 17 meses, que também apresentou uma oscilação nos seus resultados de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* até o fim do experimento.

Como a fração 2 é o tipo de hidrocarboneto de petróleo mais leve usado nos experimentos, com o grau API mais alto, apresenta uma concentração de aromáticos maior, o que reflete a alta toxicidade aguda apresentada nos ensaios com *Vibrio fischeri* das unidades experimentais no período estabelecido, com inibição da bioluminescência inicial de 81,12% e final de 12,58%. Resultados que corresponderam à característica deste hidrocarboneto segundo CETESB, 2009; ITOPF, 2009; NOAA, 2002; GESAMP, 1993.

Em todos os ensaios ecotoxicológicos realizados nas unidades experimentais em vaso foram observadas oscilações das taxas de inibição da bioluminescência das bactérias durante o período de experimentação. Houve uma dificuldade para retirada das amostras homogêneas para as análises, assim como ocorre no ambiente natural impactado submetido a um complexo número de variáveis, já que para cada análise era coletada uma sub-amostra composta (originada de 3 sub-amostras) referente de cada unidade experimental. Logo, mesmo com toda a preocupação para obter uma sub-amostragem composta, em cada uma destas sub-amostragens estiveram susceptíveis em cada coleta de sedimento concentrações diferentes dos devidos contaminantes, não apresentando uma amostragem final exata e sim aproximada. Outro fator que pode ter contribuído à oscilação dos resultados nestes ensaios foi o curto tempo de exposição das unidades experimentais.

Existem substâncias chamadas misturas complexas não resolvidas (UCM), que também podem influenciar na toxicidade e geralmente aparece durante o período de degradação, principalmente para óleos mais pesados, gerando compostos não conhecidos, havendo a possibilidade de resultar nas grandes oscilações das taxas de inibição da bioluminescência neste período de experimentação como descreve CETESB, 2009; ITOPF, 2009; DEHAINI, 2001; PALADINO, 2000 e VOLKMAN *et al.*, 1992.

No gráfico da figura 16 além das médias e desvios-padrão, também foi feita uma análise estatística através de regressões lineares.

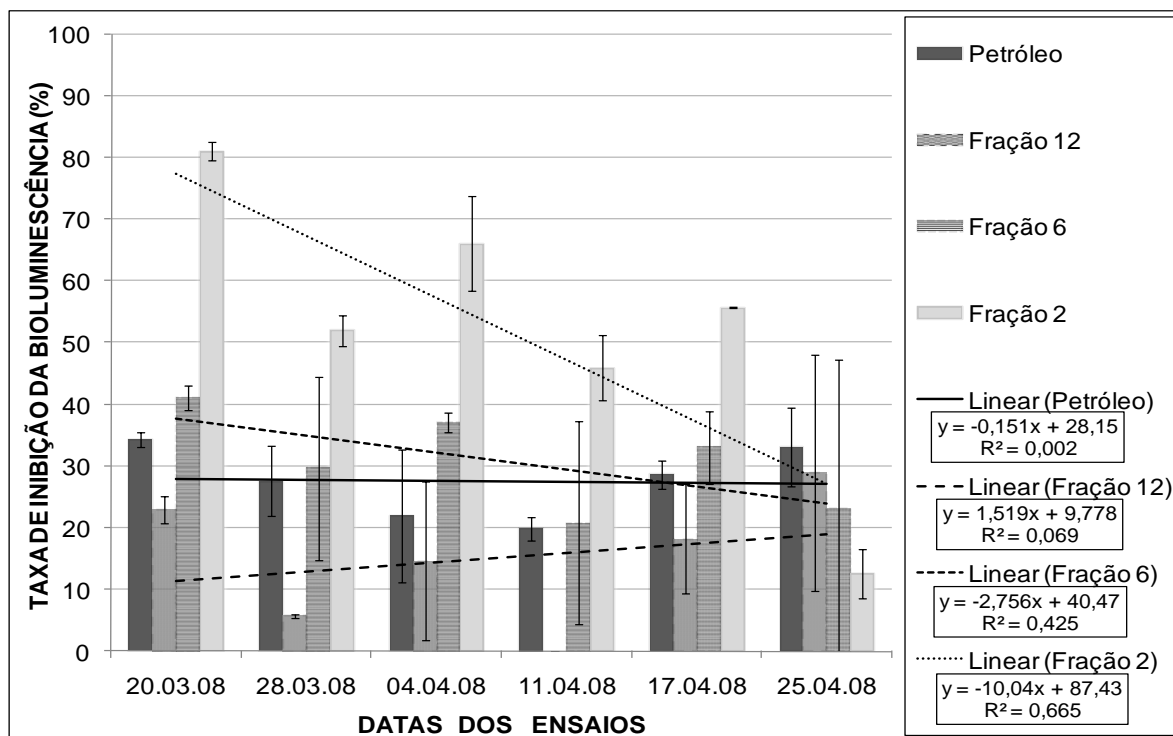


Figura 16 - Avaliação estatística das taxas de inibição da bioluminescência da *Vibrio fischeri* em ensaios com sedimento de manguezal contaminado com hidrocarbonetos de petróleo contidos nas unidades experimentais em vaso no período de cinco semanas.

Na análise de regressão linear foi observada uma significância baixa em todos os tratamentos experimentados, através do R² apresentado. Esperava-se um decréscimo ecotoxicológico em todas as unidades experimentais, porém isso só foi observado de forma um pouco mais clara e convincente para os experimentos contendo a fração 2 como contaminante. Apesar de o declínio (β) ser baixo o petróleo e a fração 6 também apresentou uma linha de tendência referente à inibição da taxa de bioluminescência baixa.

Apesar da variabilidade dos dados das amostras, o gráfico da figura 16 destaca de forma clara o comportamento ecotoxicológico agudo indicado pela taxa da bioluminescência, demonstrando uma correlação da declividade (β) da linha de tendência com a densidade ou grau API do óleo nos experimentos, pois quanto maior é o grau API do hidrocarboneto (mais leve) maior será a toxicidade, como confirmado na literatura (CETESB, 2009; ITOPI, 2009; NOAA, 2002; GESAMP, 1993).

5.3. MONITORAMENTO FÍSICO-QUÍMICO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS LATA/PET

Após a obtenção dos resultados de ecotoxicologia aguda da primeira unidade experimental em vaso, foram propostas alterações para a nova unidade experimental com o objetivo de evitar erros amostrais e aproximar os experimentos *ex situ* a condições mais próximas das encontradas no ambiente natural.

Para melhor avaliar as modificações e as novas condições das unidades experimentais foram necessárias avaliações físico-químicas da água intersticial do sedimento, quanto a oxigênio dissolvido (OD), pH, Salinidade e Temperatura. Lembrando que o sedimento durante todos os experimentos neste tipo de unidade experimental se manteve saturado com água, chegando a ficar submerso. Estas avaliações foram realizadas em duas etapas, uma no mês de outubro de 2008 e outra no mês de janeiro de 2009, apresentadas de forma resumida nas tabelas 10 e 11, respectivamente.

A primeira avaliação físico-química das unidades experimentais Lata/PET foram realizadas durante três semanas, do dia 10/10/2008 ao dia 24/10/2008 (Tabela 10).

Tabela 10 - Primeira avaliação dos parâmetros físico-químicos das Unidades Experimentais Lata/PET em três semanas.

Datas	10/10/2008				17/10/2008				24/10/2008			
	Parâm.	OD (mg/L)	pH	Sal.	Temp (°C)	OD (mg/L)	pH	Sal.	Temp (°C)	OD (mg/L)	pH	Sal.
U.E.Lata/PET 1	0,00	5,60	28	25,4	0,00	5,70	33	27,7	0,00	4,21	25	29,3
U.E.Lata/PET 2	0,20	4,75	20	25,4	0,00	5,28	24	27,7	0,00	3,36	25	29,3
U.E.Lata/PET 3	0,00	6,30	23	25,4	0,00	5,69	25	27,7	0,00	5,28	28	29,3
U.E.Lata/PET 4	0,00	5,66	33	25,4	0,50	5,30	22	27,7	0,00	4,78	29	29,3
U.E.Lata/PET 5	0,00	6,47	25	25,4	0,60	6,32	31	27,7	0,00	5,41	32	29,3
Médias	0,04	5,76	25,8	25,4	0,22	5,66	27,0	27,7	0,00	4,61	27,8	29,3
Desv.Pad.	0,09	0,68	5,0	0	0,30	0,42	4,7	0	0,00	0,84	2,9	0

Em outra avaliação os resultados físico-químicos continuaram correspondendo de forma segura a uma simulação do sedimento de manguezal como ocorre no ambiente natural, principalmente quanto aos parâmetros de pH, salinidade e temperatura (Tabela 11).

Não houve a necessidade de medir novamente o oxigênio dissolvido da água intersticial na tabela 11, pois o sedimento saturado com água proporciona a ausência de oxigênio no ambiente, devido os processos microbiológicos de fermentação (NOAA, 2002), o que foi comprovado nos resultados das análises da tabela 10.

Tabela 11 - Segunda avaliação dos parâmetros físico-químicos das Unidades Experimentais Lata/PET em quatro semanas.

Datas		6/1/2009			13/1/2009			21/1/2009			27/1/2009		
Tratam.	Parâm.	pH		Temp. (°C)	pH		Temp. (°C)	pH		Temp. (°C)	pH		Temp. (°C)
			Sal.		Sal.		Sal.		Sal.		Sal.		Sal.
U.E.Lata/PET 1		4,69	14	24,6	4,05	18	30,7	4,14	28	29,8	4,48	13	25,6
U.E.Lata/PET 2		4,58	44	24,6	4,19	37	30,7	4,43	35	29,8	4,92	25	25,6
U.E.Lata/PET 3		4,74	14	24,6	4,12	18	30,7	4,49	20	29,8	4,7	15	25,6
U.E.Lata/PET 4		4,65	25	24,6	4,11	24	30,7	4,72	26	29,8	4,64	20	25,6
Médias		4,67	24,2	24,6	4,12	24,2	30,7	4,45	27,2	29,8	4,69	18,2	25,6
Desv.Pad.		0,07	14,1	0,0	0,06	8,9	0,0	0,24	6,1	0,0	0,18	5,3	0,0

Em uma avaliação geral destas unidades experimentais foi possível observar confiabilidade através dos resultados apresentados nas tabelas 10 e 11, quanto a controle ou estabilidade das variáveis físico-químicas, visto que os desvios padrão foram baixos, demonstrando baixa variabilidade, exceto em poucas análises como a salinidade do dia 6 de janeiro do ano de 2009.

O pH da água intersticial apresentou-se baixo, em média (aproximadamente 4,5), pelo mesmo motivo da ausência de oxigênio do sedimento, pois os processos de fermentação microbiana também reduzem o pH (NOAA, 2002), visto que estas unidades experimentais também não simulam fluxo e variação de marés, evitando a dinâmica encontrada na maior parte destes ambientes. Assim, estas condições são

similares a região supra-litoral dos manguezais, onde Branco (1990) encontrou um pH médio de 4 com variação aproximada mínima de 3 e máxima de 5 em 13 análises realizadas no ano de 1986 no manguezal de Itacorubi no estado de Santa Catarina.

A salinidade da água intersticial das unidades experimentais Lata/PET variou de 18 a aproximadamente 28, com uma média de 25. Na água intersticial do local de coleta a salinidade variou de 33 a 21 com média de 28. Essas variações podiam ser observadas um dia após a manutenção para reposição com água destilada nestes sistemas, diluindo o sal presente ou uma concentração do sal maior antes da manutenção, aumentando a salinidade. A salinidade que é um parâmetro que varia bastante em um estuário, a depender da localização, pois estará sujeita às influências das águas doces dos rios e variações de marés. Por exemplo, Silva *et al.* (2005) fez medições de salinidade em pontos do estuário do Rio São Mateus (ES) e observou variações de salinidade bem diferentes, sendo o estuário inferior com uma salinidade média de 28 e o estuário superior com salinidade de 9.

A temperatura do sedimento de manguezal nas latas foi igual para cada medição e comparada ao monitoramento realizado no local de coleta, ambas obtiveram a mesma média de 27 °C, mesmo os monitoramentos tendo ocorrido em datas diferentes, porém na mesma estação do ano.

5.4. MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO DEFINITIVO COM *VIBRIO FISCHERI*

Desta vez os ensaios ecotoxicológicos agudos definitivos com *Vibrio fischeri* foram realizados durante três meses após o derrame dos hidrocarbonetos de petróleo em unidades experimentais Lata/PET que simulou algumas características físico-químicas comuns da encontrada no ambiente natural de manguezal.

Na tabela 12 foram apresentados os resultados de monitoramento por ensaios de ecotoxicologia aguda com *Vibrio fischeri* das unidades experimentais Lata/PET.

Tabela 12 - Avaliação estatística das taxas percentuais de inibição da bioluminescência da *Vibrio fischeri* em ensaios com sedimentos nas unidades experimentais Lata/PET no período de três meses.

Tratamentos	Derrame	1º) Mês	2º) Mês	3º) Mês
	18/8/2008	15/9/2008	13/10/2008	10/11/2008
Controle	0	0	0	0
Desv.P.	0	0	0	0
Petróleo	43,42	12,39	0	0
Desv.P.	0,58	14,43	0	0
Fração 12	24,13	13,81	0	0
Desv.P.	0,92	2,91	0	0
Fração 6	55,62	32,44	0	0
Desv.P.	6,73	1,32	0	0
Fração 2	75,46	0	0	0
Desv.P.	9,67	0	0	0

O monitoramento da toxicidade aguda com *Vibrio Fischeri* das unidades experimentais Lata/PET apresentaram resultados esperados pelo que determina a literatura, apresentando uma correlação com a densidade dos tipos de óleos. Pois novamente a toxicidade foi a mais alta para a fração mais leve (Fração 2), ou grau API mais alto, que também sofreu maiores intempéries num curto espaço de tempo, principalmente evaporação, sentida através do olfato (CETESB, 2009; ITOPF, 2009; NOAA, 2002; GESAMP, 1993).

Todos estes sistemas contaminados com os hidrocarbonetos apresentaram novamente toxicidade aguda elevada no primeiro dia, referente à análise do dia do derrame. A ausência de uma toxicidade aguda significativa para o petróleo bruto no primeiro mês está diretamente relacionada à alta variação determinada pelo valor alto do desvio padrão, já que sua média da taxa de inibição da bioluminescência foi de 12,39%, valor próximo ao da fração 12, com 13,81%, mas com um desvio padrão baixo.

No segundo e último mês a toxicidade aguda foi nula nos ensaios definitivos, ou seja em todos os tratamentos das unidades experimentais Lata/PET (LEWIS, 1983 *apud* NOAA, 2002).

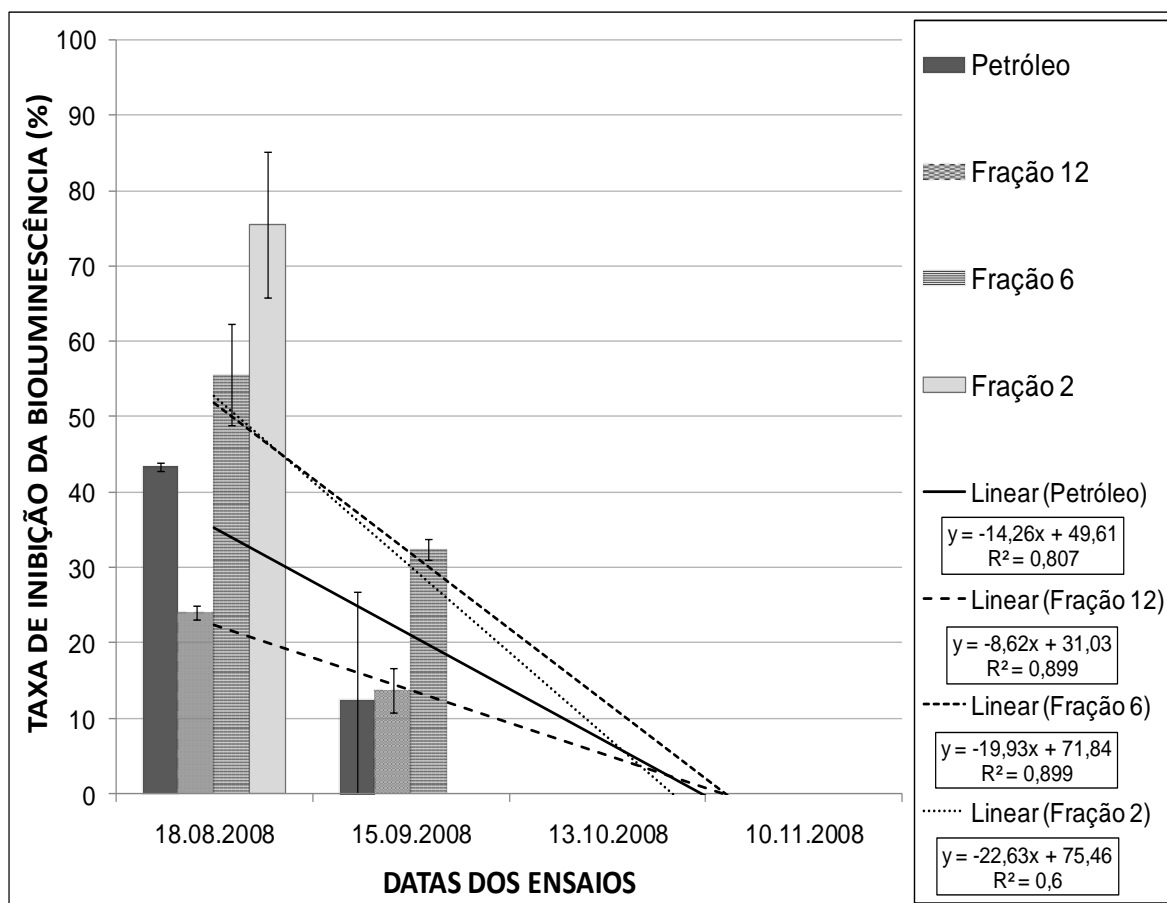


Figura 17 - Taxas de inibição da bioluminescência da *Vibrio fischeri* no sedimento de manguezal contaminado com hidrocarbonetos de petróleo (Petróleo, Fração 12, 6 e 2) das unidades experimentais Lata/PET monitorado durante 3 meses.

Os resultados também foram satisfatórios quanto à linearidade. Observa-se que as linhas de tendência convergem-se entre o segundo e o último mês.

A taxa de inibição da bioluminescência além de ser maior para as frações mais leves, também degradaram mais rápidas, sendo esta observada em ordem de densidade, fração 2, fração 6, petróleo e fração 12 (Figura 17).

A confiabilidade da regressão linear expressa pelo R^2 foram altas, pois todos apresentaram valores acima de 0,8, exceto a fração 2 devido o fato de somente ter apresentado toxicidade na primeira análise (Tabela 12) (Figura 17).

O tempo para o monitoramento destes sistemas ou destas unidades experimentais foi maior e melhor monitorado do que nas unidades experimentais em vaso, logo, gerando resultados mais precisos e coerentes.

6. CONCLUSÃO

O sedimento de manguezal coletado no Canal da Passagem apresentou altas taxas de fósforo total, nitrogênio kjeldahl e nitrogênio amoniacal, confirmando diagnósticos de outros autores na região.

As unidades experimentais Lata/PET desenvolvidas com recipientes de alumínio e garrafa pet demonstraram ser eficientes para simular as condições naturais do sedimento de manguezal, visto que parâmetros físico-químicos avaliados apresentaram valores similares aos encontrados em campo com condições semelhantes das encontradas na literatura, além de estes serem facilmente controláveis.

A bactéria *Vibrio fischeri* durante o monitoramento por ensaios ecotoxicológicos em três meses apresentou atenuação da toxicidade em todos os tratamentos definitivos realizados nas unidades experimentais Lata/PET, sendo maiores e toxicidade mais acentuada para os tipos de óleo mais leve ao mais pesado, devido à alta volatilidade dos hidrocarbonetos, que demonstraram ser mais tóxicos, pelo fato de apresentarem uma concentração maior dos aromáticos. Na unidade experimental preliminar em vaso a atenuação foi presente apenas para a Fração 2 (similar ao querosene), verificada pela linha de tendência da regressão. Comparando os ensaios preliminares aos definitivos, foi demonstrado que tempo também foi um fator determinante para observação destes resultados.

7. RECOMENDAÇÕES

- Fazer levantamento da microbiota anaeróbia do sedimento de manguezal no ecossistema manguezal e das unidades experimentais Lata/PET durante os processos de simulação.
- Estudar a atividade enzimática da microbiota anaeróbia do sedimento de manguezal das unidades experimentais Lata/PET durante um período após o derrame simulado de hidrocarbonetos de petróleo.
- Realizar novos monitoramentos de derrame simulado de hidrocarbonetos de petróleo sobre o sedimento de manguezal contido nas unidades experimentais Lata/PET por um período maior com *Vibrio fischeri* e *Skeletonema costatum*, paralelamente a análises de cromatografia gasosa por espectrometria de massas, visando os tipos e concentrações de aromáticos influentes na toxicidade aguda e crônica.
- Realizar novos monitoramentos de derrame simulado de hidrocarbonetos de petróleo sobre o sedimento de manguezal nestas unidades experimentais Lata/PET utilizando outros organismos representativos e até de níveis tróficos diferentes para ensaios de toxicidade aguda e crônica destes ambientes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M. **Biodegradation and Bioremediation**. New York: Academic Press NY, 1999.

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis. **Anuário estatístico** disponível em < www.anp.gov.br/conheca/anuario_estat.asp > Acessado em: 17 de julho de 2009.

APHA. **Standard methods**. 19th Edition. American Public Health Association, Washington, DC. 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6508**. Determinação da massa específica do solo. Rio de Janeiro: ABNT, 1984.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7181**. solo : análise granulométrica : método de ensaio. Rio de Janeiro: ABNT, 1984.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13600**. solo - determinação do teor de matéria orgânica por queima a 440 graus Rio de Janeiro: ABNT, 1996.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6457**. Teor de umidade do solo. Rio de Janeiro: ABNT, 1986.

AZEVEDO, F. A; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: RiMa Editora, 2003.

BAKER, J. M.; GUZMAN L. **Long term fate and effects of untreated thick oil deposits on salt marshes**. On the int. oil spill conference Washington. Proceedings. American Petroleum Institute, p.395-399, 1993.

BISINOTI, Márcia Cristina. **Produção de Hg orgânico em sedimentos tropicais a partir do Hg⁰: experimentos em microcosmos**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas-SP-UNICAMP, Campinas, 2002.

BP. BP Statistical review of world energy. Disponível em < http://www.bp.com/liveassets/bp_internet/globalbp/globalbp_uk_english/reports_and

[publications/statistical_energy_review_2008/STAGING/local_assets/2009_downloads/statistical_review_of_world_energy_full_report_2009.pdf](#) >Acesso em: 17 de julho de 2009.

BRANCO, J.O. Aspectos ecológicos dos brachyura (Crustacea: Decapoda) no Manguezal do Itacorubi, SC - Brasil. **Revta bras. Zool.**, v.7, n.1-2, p.165-179, 1990.

BRITO, E. M. S.; GUYONEAUD, R.; GOÑI-URRIZA, M.; RANCHOU-PEYRUSE, A.; VERBAERE, A.; CRAPEZ, M. A. C.; WASSERMAN J. C. A.; DURAN, R. Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil. **Research in Microbiology**, v.157, p. 752-762, 2006.

CASTRO, M. S. M. **Análise da influência das águas do canal da Passagem sobre o padrão de escoamento na baía do Espírito Santo**. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2001.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Métodos de Avaliação da Toxicidade de Poluentes a Organismos Aquáticos**. Volume I: Orientações para a manutenção, cultivo e realização de testes de toxicidade com organismos aquáticos. São Paulo, 2006.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Aspectos físicos e químicos**. [s.d.]. Disponível em: <
http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/oleo/a_fisicos.asp >
Acesso em: 10 abr. 2009.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Guia de coleta e preservação de amostras de água. 1^a ed. São Paulo, 155p, 1987.

CESAR, A.; PEREIRA, C.D.S.; SANTOS, A.R.; ABESSA, D.M.S.; FERNÁNDEZ, N.; CHOUERI, R. B. E DELVALLS, T.A. Ecotoxicological Assessment Of Sediments From The Santos And São Vicente Estuarine System – Brazil. **Brazilian Journal Of Oceanography**, V.54,p.55-63, 2006.

CLARK, R. B. **Marine pollution**. 5. ed. New York. Oxford University Press. p. 237, 2001.

CLARKE, P. J.; WARD, T. J. The response of southern hemisphere salt marsh plant and gastropods to experimental contamination by petroleum hydrocarbons. **Journal of Experimental Ecology**, v.175, p. 43-57, 1994.

CUNHA, S. B.; GUERRA, A. J. T. **Geomorfologia: Exercícios, Técnicas e Aplicações**. Rio de Janeiro: Ed. Bertrand Brasil, 1996.

CURY, J. C. **Atividade microbiana e diversidades metabólica e genética em solo de mangue contaminado com petróleo**. 2002. 95f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola superior de agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 2002.

DAVOODI, F. e CLAIREAUX, G. Effects of exposure to petroleum hydrocarbons upon the metabolism of the common sole *Solea solea*. **Marine Pollution Bulletin**, v.54, p. 928-934, 2007.

D'AGOSTINI, D. P. **Fácies sedimentares associadas ao sistema estuarino da baía de Vitória (ES)**. 2005. 64f. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, 2005.

DEHAINI, J. **Detecção da Pluma de Contaminação de Hidrocarbonetos em Subsuperfície pelo Método de Radar de Penetração**. 2001. 100f. Tese (Doutorado em Recursos Minerais e Hidrogeologia) Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo - SP, 2001.

DEL VALLS, T. A; FORJA, J. M. & GOMES-PARRA, A. Seasonality of contamination and quality values in sediments from littoral ecosystems in Gulf of Cadiz (SW Spain). **Chemosphere**. V.46 p.1033-1043. 2002.

DIAS, M. H. B. **Distribuição de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo de uma secção transversal do manguezal no estuário da baía de Vitória**. 2005. Monografia (graduação em oceanografia) – programa de graduação em oceanografia, universidade federal do espírito santo (UFES), Vitória – ES, 2005.

DHN – Diretoria de Hidrografia e Navegação. Marinha do Brasil. **Tábuas de maré**. Disponível em: < <http://www.mar.mil.br/dhn/chm/tabuas/index.htm>> Acesso em: 20 maio 2009.

EWEL, K.C., R.R TWILLEY, AND J. E. ONG. Different kinds of mangrove forests provide different goods and services. **Global Ecology and Biogeography Letters**. V.7, p.83-94. 1998.

EYSINK, G. G. J.; BERNARDO, M. P. S. L.; SILVA, L. S.; BACELIERI, S.; SIQUEIRA, M. C.; SUMMA, D.; VIGAR, N. D.; ACHKAR, S. M. **Replântio de plântulas de LAGUNCULARIA RACEMOSA visando o seu uso em programas de recuperação de manguezais degradados**. In: IV SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS. 1998, Águas de Lindóia. Anais do IV simpósio de ecossistemas brasileiros. Águas de Lindóia: ACIESP, v. 1, p. 48-52, 1998.

FARIAS, C. O. **Avaliação da degradação de óleo em sedimentos de manguezal: Estudo de caso, Baía de Guanabara, RJ**. 2006. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Pontifícia Universidade Federal do Rio de Janeiro (PUC-RIO), Rio de Janeiro - RJ, 2006.

FARIAS, C. O., HAMACHER, C., WAGENER, A.L.R., SCOFIELD A.,L., Origin and degradation of hidrocarbons in mangrove sediments (Rio de Janeiro, Brazil) contaminated by and oil spill. **Organic Geochemistry**. V. 3, p. 289-307, 2008.

FETTER, C. W. **Contaminant Hydrogeology**. New York: Macmillan, 1993.

FERREIRA, J.; ZUQUETTE, L.V. Considerações sobre as interações entre contaminantes constituídos de hidrocarbonetos e os componentes do meio físico. **Geociências**, São Paulo, v.17, n.2, p.527-557, jul/dez. 1998.

FERREIRA, R. D. **Os manguezais da baía de Vitória (ES): Um estudo de geografia física integrada**. 1989. Tese (Doutorado em Geografia) - Programa de pós-graduação em geografia, Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 1989.

FERREIRA, T. O. **Processos pedogenéticos e biogeoquímica de Fe e S em solos de manguezais**. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 2006.

FICHET, D.; RADENAC, G. & MIRAMAND, P. Experimental studies of impacts of harbours sediments resuspension to marine invertebrates larvae: Bioavailability of Cd, Cu, Pb, and Zn and toxicity. **Mar. Pollut. Bull.** V.36, p.509-518. 1998.

FROEHNER, K.; BACKHAUS, T.; GRIMME, L. H.. Bioassays with *Vibrio fischeri* for the assessment of delayed toxicity. **Chemosphere**, Germany, v.40, 2000.

GESAMP - Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution - **Impact of Oil and Related Chemicals and Wastes on the Marine Environment**. GESAMP Reports and Studies, No 50. 1993.

GULLEY, D.D.D; BOELTER, A.M. & BERGMAN, H.L. **Toxstat version 3.5** Univ. Wyoming (Laramie/WY). 1991.

HARMEL, V.C. **Padronização de um teste de toxicidade crônica com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri* para análise de qualidade de águas superficiais**. 2004. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental pela Universidade Regional de Blumenau, Blumenau – SC, 2004.

HOGARTH, P. J. **The Biology of Mangroves**. Oxford: Oxford University Press. 1999. 228 p.

HUBÁLEK, T., VOSÁHLOVÁ, S., MATEJU, V., KAVÁCOVÁ, N., NOVOTNY, C. Ecotoxicity monitoring of hidrocarbon-contaminated soil during biorremediation: A case study. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 52, p.1-7, 2007.

HUESEMANN, H. M. Guidelines for land-treating petroleum hydrocarbon-contaminated soils. **Journal Soil Contaminate**. v. 3, p. 299-318, 1994.

INTERNATIONAL STANDARDIZATION ORGANIZATION. ISO/CD 21338: **Water quality—Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment and other solids and colour containing samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (kinetic luminescent bacteria test)**. Geneva, 2005.

IPHAN – Instituto do Patrimônio Artístico e Histórico Nacional. **Dossiê IPHAN 3 – Ofício das Paneleiras de Goiabeiras**. Disponível em < [http://www.cnfcp.gov.br/pdf/Patrimonio Imaterial/Dossie Patrimonio Imaterial/Dossi e Paneleira Goiabeira.pdf](http://www.cnfcp.gov.br/pdf/Patrimonio%20Imaterial/Dossie%20Patrimonio%20Imaterial/Dossi%20e%20Paneleira%20Goiabeira.pdf) >. Acessado em: 17 de julho de 2009.

ITOPF (The International Tanker Owners Pollution Federation Limited). **Case Histories – E**. Disponível em <<http://www.itopf.com/information-services/data-and-statistics/case-histories/>>. Acessado em: 5 maio 2009.

IPIECA - International Petroleum Industry Environmental Conservation Association. **Biological impacts of oil pollution: mangroves**. 4 v, 24p. 1993. Disponível em: <http://www.ipieca.org/activities/oilspill/downloads/publications/reports/english/Vol4_Mangroves.pdf> Acesso em: 21 abr. 2006.

JENNINGS, Victor L. K.; RAYNER-BRANDES, Michael H.; BIRD, David. Assessing chemical with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fischeri*): a comparison of three commercial systems. **Chemosphere**, p.102-109, 1999.

KENNISH, M. J. **Pollution impacts on marine biotic communities**. New Jersey. CRC Press LLC. 1997. 336p.

KNIE, J. L. W. e LOPES, E. W. B. **Testes toxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004.

LUGLI, D. O. **Caracterização Ecológica do Apicum do Manguezal do Rio Tavares**. 2004. 143p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI. Itajaí-SC, 2004.

MICHEL, J. **Adverse effects from oil**. Disponível em: <http://www.darcnw.noaa.gov/liad_apd.pdf> Acesso em: 16 abr. 2007.

MMA - Ministério do Meio Ambiente. **Especificações e Normas Técnicas para Elaboração de Cartas de Sensibilidade Ambiental para Derramamentos de Óleo**, 2002.

MOSCATELLI, M. Salvando o Manguezal. **Revista Brasileira de Ecologia do Século 21-Eco**, n.41, p.41-42, 1999.

NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. **Métodos em ecotoxicologia marinha**. São Paulo: Ed. Artes Gráficas e Indústrias LTDA, 2002.

NISHIDA, A. K.; NORDI, N; ALVES, R. R. N. Aspectos socioeconômicos dos catadores de moluscos do litoral paraibano, Nordeste do Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 8, n. 1, p. 207-215, 2008.

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration. 2002. **Oil Spill in Mangroves**. Seattle, Washington: Office of Response and Restoration, National Oceanic and Atmospheric Administration, 2002. 72 p.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1985.

PAIVA, D. S. **Estudo sedimentológico do material de fundo do canal da passagem e trecho da baía de Vitória-ES**. Monografia (Especialização em Ecologia e Recursos Naturais) – Departamento de Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória - ES, 1999.

PALADINO, E. E. **Modelagem Matemática e Simulação Numérica de Trajetórias de Derrames de Petróleo no Mar**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Florianópolis, 2000.

PEDROTI, G. I. **Biodegradabilidade Aeróbia de Hidrocarbonetos derivados do Petróleo**. 2007. 56f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória - ES, 2007.

PLAZA, G.; NALECZ-JAWECKI, G.; ULFIG, K.; BRIGMON, R. L. The application of bioassay as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. **Chemosphere**, v.59, p. 289-296, 2005.

PLAA, G. L. Present status: Toxic substances in the environment. **Can.J.Physical.Pharmacol.**, v. 60, p. 1010-1016, 1982.

POTTER, T. L., and SIMMONS, K. E. **Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, Composition of Petroleum Mixtures**. Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA V. 2. 1998.

RAND, G. M; WELLS, P. G; MCCARTY, L. S. Introduction to aquatic toxicology. In: RAND, GM ed. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environment fate, and risk assessment.** Florida: 2.ed, Ed. Taylor & Francis, 1995.

REYNIER, M. V. **Efeitos de um derrame simulado de petróleo sobre a comunidade planctônica costeira em Angra dos Reis (RJ).** Tese (doutorado em Ciências). Programa de Pós- Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos –SP, 2003.

ROSSI, M.; MATTOS, I. F. A. Solos de mangue do estado de São Paulo: Caracterização química e física. **Revista do departamento de geografia.** v.15, p.101-113, 2002.

SALLES, L.P. **Influência do derramamento de petróleo sobre a comunidade macrobentônica e degradação dos hidrocarbonetos do sedimento de manguezal do Canal da Passagem, Vitória-ES.** Monografia (Graduação em Oceanografia). Departamento de Ecologia da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Vitória – ES. 2007.

SCHAEFFER-NOVELLI Y, CINTRÓN-MOLERO G, ADAIMA RR. Variability of mangrove ecosystems along the Brazilian coast. *Estuaries*, v.13, p. 204-218. 1990.

SCHERRER, P., MILLE G. Biodegradation of crude oil an experimentally polluted peaty mangrove soil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 20, n. 9, p. 430-432, 1989.

SLOAN, N. A. Oil impacts on cold water marine resources a review. **Canada Res. Documents**, Paper 11, 2002.

SANTOS, L. C. M.; CUNHA-LIGNON, M.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Ocupação antrópica na zona costeira de São Paulo: alteração da paisagem em torno do canal de Bertioga (baixada santista, Brasil). **III Simpósio Brasileiro de Oceanografia.** p. 599-605. São Paulo. Dezembro de 2006

SANTOS, L. C. M.; CUNHA-LIGNON, M.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Impacto de petróleo no Rio Irii (Baixada Santista, São Paulo): Diagnóstico da cobertura vegetal com base em fotografias aéreas digitais (1962 – 2003). **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil.** Caxambú – MG. Setembro de 2007.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN-MOLERO, G.; SOARES, M.L. & DE-ROSA, M.T. Brazilian mangroves. **Aquatic Ecosystem Health and Management**, V. 3, p. 561-570. 2000.

SILVA, M. A. B. da; BERNINI, E. e CARMO, T. M. S. do. Características estruturais de bosques de mangue do estuário do rio São Mateus, ES, Brasil. **Acta bot. bras.** v. 19, n. 3, p. 465-471, 2005.

SOARES, M. L. G.; CHAVES, F. O.; CORRÊA, F. M.; SILVA JR, C. M. G. Diversidade estrutural de bosques de mangue e sua relação com distúrbios de origem antrópica: o caso da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro). **Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ**, v. 26, p. 101-116, 2003.

USEPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY). 2002. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.** 5 ed. Disponível em: <<http://www.epa.gov/oilspill/index.htm>>. Acesso em: 11 fev. 2009.

THOMAS, J. E. **Fundamentos de Engenharia do Petróleo.** 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2004.

TOLOSA, I.; MORA, S. J.; FOWLER, S. W.; VILLENEUVE, J. P.; BARTOCCI, J.; CATTINI, C. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in marine biota and coastal sediments from the Gulf and Gulf of Oman. **Marine Pollution Bulletin.** v. 50, p. 1619-1633, 2005.

TULLI, L. M. A. **Vulnerabilidade à ação antrópica e uso e ocupação do solo para a estação ecológica municipal ilha do lameirão, Vitória-ES.** 2007. 106f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória - ES, 2007.

VANNUCCI, M. **Os manguezais e nós: uma síntese de percepções.** São Paulo: Editora USP, p.233. 1999.

VOLKMAN, J.K.; HOLDSWORTH, G.D.; NEILL, G.P.; BAVOR, H.J. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *Sci Total Environment*, v.112. p. 203-219, 1992.

YAÑEZ-ARANCIBIA, A.; LARA-DOMÍNGUEZ, A. L., ROJAS-GALAVIZ, J. L.; SÁNCHEZ-GIL, P.; DAY, J. W. e MADDEN, C.J. Seasonal biomass and diversity of estuarine fishes coupled with tropical habitat heterogeneity (southern Gulf of Mexico). **Journal of Fisheries Biology**, v. 33 (Suppl. A), p. 191-200. 1988.

WASSERMAN, J. C. e CRAPEZ, M. A. C. **Efeitos da poluição por óleo em sedimentos da Área de Proteção Ambiental de Guapimirim, Rio de Janeiro**. 35p 2002. Disponível em < www.uff.br/remadsuff/BibVirtual/Guapimirim.pdf > Acesso em: 08 fev. 2009.

ZAGATTO, A. P. e BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed.2. São Carlos: Editora RiMa, 2008.

ZARONI, L.P. **Avaliação da qualidade dos sedimentos marinhos e estuarinos do município de Bertioga – SP**. 2006. 221f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2006.