

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LILIANE PEQUENO DE ARAÚJO

AVALIAÇÃO DE EXPOSIÇÃO DE PESCADOS A HIDROCARBONETOS
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS NA BAÍA DE GUANABARA – RIO DE JANEIRO –
BRASIL

JOÃO PESSOA-PB

2010

LILIANE PEQUENO DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DE EXPOSIÇÃO DE PESCADOS A HIDROCARBONETOS
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS NA BAÍA DE GUANABARA – RIO DE JANEIRO –
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. José Marcelino Oliveira Cavaleiro

Co-Orientadora: Dr^a Maria de Fátima Guadalupe Meniconi

JOÃO PESSOA-PB

2010

A663a Araújo, Liliane Pequeno de.

Avaliação de exposição de pescados a hidrocarbonetos policíclicos aromáticos na Baía de Guanabara – Rio de Janeiro - Brasil / Liliane Pequeno de Araújo.- João Pessoa, 2010.
103f.

Orientador: José Marcelino Oliveira Cavaleiro

Co-orientadora: Maria de Fátima Guadalupe Meniconi

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2. Petróleo. 3. Metabólitos de HPAs . 4. Bile. 5. Tecido muscular. 6. Peixe. 7. Sedimento.

UFPB/BC

CDU: 664:639.2(043)

LILIANE PEQUENO DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DE EXPOSIÇÃO DE PESCADOS A HIDROCARBONETOS
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS NA BAÍA DE GUANABARA – RIO DE JANEIRO –
BRASIL**

Aprovada em : 30 de setembro de 2010

Banca Examinadora



Prof. José Marcelino Oliveira Cavaleiro, D.Sc

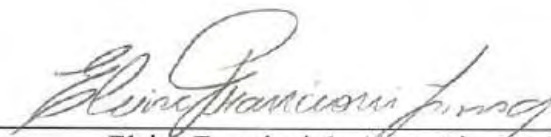
Orientador

UFPB/ CT



Prof. Valtér José Fernandes Junior D.Sc

UFRN



Eleine Francioni de Abreu Lima D.Sc

PETROBRAS/CENPES

Dê o primeiro passo acreditando no que está fazendo

Você não precisa ver a escada

Apenas dê o primeiro passo

Martin Luther King, Jr.

***À minha mãe, pelo exemplo, dedicação, amor eterno
e por estar sempre presente no meu coração.***

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao meu Deus que me sustentou e tornou tudo isso possível.

Ao meu orientador na UFPB, Prof. José Marcelino por todo o seu apoio e contribuições para a conclusão desse trabalho.

À minha orientadora Fátima Meniconi, pela oportunidade, confiança e por sempre estar disposta lutar para que tudo ocorresse da melhor forma possível no andamento desse trabalho. Também não vou esquecer seus conselhos, obrigada por tudo!

Aos meus pais, Maria Lúcia (*in memoriam*) e José Pequeno, minhas irmãs Luciana e Gisele (minhas metades), meu bebê Yan, meus cunhados Sérgio e Neto, pelo amor incondicional, dedicação, e por sempre acreditarem em mim, essa conquista é de vocês!

À minha família do coração: Moreira (Papi), Brígida (Mami), Flávia, Anderson e Roberta, não tenho palavras pra agradecer por tudo, amo vocês!

Aos meus grandes amigos do grupo de experimentação, os melhores bileiros e sushi-men do universo: Fabi (e Suzete), Gilson (Girsu), Lima (meu braço direito), Fabinho (O homem da capilaridade), Bia (ex-estag), João, seu Ruy, Leila, Gleidice, Bruno, Moniquete, Flavinha (ex-estag) pelo excelente e divertido trabalho na dissecação e análise das amostras, horas a fio e sem perder o bom humor. É muito bom e divertido trabalhar com vocês (apesar de ser constantemente “zoada” e chamada de “Paraíba”)!

Ao “Meu parente” Marcus por toda ajuda seja na gerência do BN (Buraco negro), na organização das atividades de coleta no laboratório ou na parte estatística.

Ao meu fiel escudeiro Dalton (Dartu), obrigado pela sua dedicação e por fazer desse o seu trabalho também, *Só no filé!*

Ao Rafael (Fofu), pelos inesquecíveis “cruzeiros do amor” pela Baía de Guanabara em busca de peixes, por todo apoio nas atividades de laboratório, pela participação na banca de pré-defesa e a valiosa ajuda na elaboração do trabalho. Valeu Fofuuuuu.

À grande Dulce (tchuk) pelo seu apoio na identificação e biometria dos peixes e pelas muitas risadas nos cansativos dias de coleta.

Ao Leandro (meu Tutor), pela força na parte analítica, por tornar o trabalho no massas muito “massa”!

Às minhas amigas do LABMAN-PUC Adriana, Carla e Taís, muito obrigada pela ajuda!

Aos meus amigos Tiago e Prof. Adilma (a minha mãe pernambucana) da UFPE, obrigada pelo apoio e pelo carinho reconfortante!

Aos meus irmãos de coração Eleine e André Brites (Mané), por estarem sempre ao meu lado me apoiando, me ouvindo, puxando a minha orelha e pelas sábias dicas e orientações quanto a esse trabalho.

Ao meu amigo, argentino, mas meu amigo Carlos, por também “pescar” comigo, por todos os mapas e por tentar sempre manter o seu papel de “bileiro” no laboratório mesmo estando sempre tão subtraído por tantos relatórios.

Às minhas grandes amigas Cecília (Raiga), Sofia (Sofis) e Sara Barros, muito obrigada pela força e por estar ao meu lado nesse momento!

Ao pessoal do laboratório de cromatografia líquida (CENPES/QM): Cleber, Flávio e Marcele por toda a paciência e boa vontade na realização das análises de GPC e HPLC das amostras, muito obrigada!

Agradeço também aos colegas do SOP, em especial à Vera e à Daniele que viabilizaram a difícil tarefa de envio de bile de peixe para a França.

Agradeço a Petrobras por ter viabilizado meu programa de pós-graduação com a concessão dos recursos necessários para a sua realização. Em especial aos gerentes Pedro Penido Duarte Guimarães e Viviana Canhão Bernardes Coelho.

Agradeço as pessoas com as quais convivi no Laboratório de Físicotóxicoquímica de Sistemas Naturais da Universidade de Bordeaux e que contribuíram para este trabalho. Especialmente à Hélène Budzinski , Karyn Leman e Ceciline Lourtil, pela oportunidade e aprendizagem. Agradeço ainda a Sylvie Augagneur por toda a sua ajuda na resolução de problemas burocráticos.

Enfim, a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para mais essa importante conquista em minha vida.

RESUMO

ARAUJO, L. P. **Avaliação de Exposição de Pescados a Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos na Baía de Guanabara – Rio de Janeiro – Brasil**. João Pessoa, 2010. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

Este trabalho teve como objetivo a avaliação da contaminação por HPAs em peixes provenientes da Baía de Guanabara através da identificação e quantificação desses compostos em tecido muscular e de seus metabólitos em bile. A Baía de Guanabara é um ecossistema estuarino de forte influência antropogênica que recebe poluição crônica da região metropolitana do Rio de Janeiro. Foram analisados 41 amostras de peixes da espécie *Mugil liza* (Tainha) coletados na Baía de Guanabara no período de agosto a outubro de 2008. Nos tecidos musculares foram quantificados 38 compostos (16 HPAs EPA e seus respectivos alquilados). A análise estatística revelou que esse grupo de dados é proveniente de uma mesma população com distribuição normal, com valor médio de concentração de 127 ng/g e desvio-padrão populacional de 18 ng/g para o Σ 16 HPAs e concentração média populacional para o Σ 38 HPAs de 274 ng/g e desvio-padrão de 59 ng/g. Em sequência, foi realizada a avaliação do nível de exposição a que os organismos aquáticos da Baía de Guanabara estão submetidos, através da análise de 30 amostras de bile de peixes da espécie *Mugil Liza* provenientes de currais da área de fundo da Baía de Guanabara, onde foram quantificados 13 metabólitos individuais de HPAs. Os metabólitos determinados foram 1-OH-Naftaleno, 2-OH-Naftaleno, 2-OH-Bifenila, 3-OH-Fluoreno, 1-OH-Fenantreno, 2-OH-Fenantreno, 3-OH-Fenantreno, 4-OH-Fenantreno, 9-OH-Fenantreno, 1-OH-pireno, 1-OH-criseno, 3-OH-benzo(a)pireno e 9-OH-benzo(a)pireno. O valor médio de concentração do somatório dos metabólitos foi de 1.039 ng/g e desvio-padrão populacional de 623 ng/g. Esses dados podem ser utilizados como valores característicos para a região já que apresentaram uma distribuição normal. As concentrações determinadas encontraram-se dentro da faixa de outras regiões com influência antropogênica elevada, com aporte crônico de hidrocarbonetos. O bioindicador utilizado neste estudo, o peixe da espécie *Mugil liza*, mostrou-se efetivo para a avaliação da contaminação por HPAs em um ecossistema como a Baía de Guanabara.

Palavras-chaves: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; petróleo, metabólitos de HPAs; bile; tecido muscular; peixe; sedimento.

ABSTRACT

ARAÚJO, L. P. Evaluation of Guanabara Bay Fishes Exposition to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – João Pessoa, 2010. 103p. M.Sc. Thesis, Universidade Federal da Paraíba.

The aim of this work was to evaluate the PAHs contamination in muscular tissue and bile of *Mugil liza* fishes from Guanabara Bay. The Guanabara Bay is an estuarine ecosystem with high anthropogenic influence which receives chronic pollution from Rio de Janeiro city. It was determined 38 compounds (16 PAHs EPA + alkylated ones) in muscular tissue samples of 41 fishes captured from August 2008 to October 2008. Statistical analyzes showed that the data concentration has a normal distribution and drawn from the same population, with mean concentration of 127 ng/g and standard deviation of 18 ng/g to the 16 PAHs EPA. The mean concentration for the 38 compounds was 274 ng/g and standard deviation of 59 ng/g. It was determined 13 metabolites of PAHs of 30 *Mugil liza* fishes (n=30) captured in the inner part of the Guanabara Bay. The metabolites determined were OH-Naphthalenes, OH-Biphenyl, OH-Fluorene, OH-Phenantrenes, OH-Pyrene, OH-Chrysene, OH-Benz(a)pyrene. It was observed in this study a normal distribution of concentrations for both set of data: bile PAH metabolites and PAH muscular tissue. This indicates the existence of two data populations. The mean concentration of PAH metabolites obtained was 1,039 ng/g and standard deviation of 624 ng/g. These data can be used as back ground to the inner part of Guanabara Bay. The bioindicator in this study, *Mugil liza* fish, has shown to be effective to evaluate the contamination and exposition of Guanabara Bay ecosystem to PAH.

Key-words: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; Petroleum, PAHs metabolites; bile; muscular tissue; fish; sediment.

LISTAS DE ABREVIACÕES E SIGLAS

APA	-Área de Proteção Ambiental
BG	-Baía de Guanabara
BaP	-Benzo(a)pireno
CG/EM	- Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CLAP-F	- Cromatografia líquida de alta performance com detector de fluorescência
CL/EM/EM	- Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
cm	- centímetro (10^{-2} m)
CONAMA	- Conselho Nacional de Meio Ambiente
DBO	- Demanda Bioquímica de Oxigênio
EPA	- Environmental Protection Agency
HPAs	- Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
ITOPF	- International Tanker Owners Pollution Federation
LDM	- Limite de detecção do método
m	- metro
mg	- Miligrama (10^{-3} g)
MDEP	- Marine Department of Environment Protection.
m/z	- Íon de quantificação – razão massa sobre carga
ng	- Nanograma (10^{-9} g)
NOAA	- National Oceanic and Atmospheric Administration
OH-HPA	- Metabólito de HPAs
RIDOH	- Rhode Island Department of Health.
SIM	- <i>Single ion monitoring</i>
SCF	- European Scientific Committee on Food
μL	- Microlitro (10^{-3} L)

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Fórmulas estruturais e a nomenclatura IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) dos 16 HPAs prioritários segundo a agência de proteção ambiental americana (US-EPA: Environmental Protection Agency).	4
Figura 2. Estruturas e nomenclatura de HPAs parentais e alquilados mais frequentemente investigados na literatura (apud SILVA, 2005).	5
Figura 3. Estrutura e nomenclatura dos metabólitos livres de HPAs.	8
Figura 4. Esquema da ativação metabólica de HPAs através de oxidação por reação enzimática. (apud MENICONI, 2007).	9
Figura 5. Localização da Baía de Guanabara.	12
Figura 6. Ilustração de um exemplar da espécie <i>Mugil liza</i> .	15
Figura 7. Áreas de coleta dos Peixes e currais de pesca na Baía de Guanabara.	17
Figura 8. Extração da bile em um exemplar do peixe <i>Mugil liza</i> .	19
Figura 9. Fluxograma das etapas de amostragem e processamento das amostras de <i>Mugil liza</i> da Baía de Guanabara.	19
Figura 10. Espectro de Massas de padrões de HPAs obtido por CG/MS.	23
Figura 11. Fluxograma das etapas analíticas envolvidas na determinação de metabólitos de HPAs em bile de peixes através de CL/EM/EM.	26
Figura 12. Cromatograma de metabólitos obtido por CL/EM/EM adaptado de Ariese <i>et al.</i> , 2005).	29
Figura 13. Distribuição Espacial dos Σ 16 HPAs em tecido muscular de peixe <i>Mugil liza</i> da Baía de Guanabara.	34
Figura 14. Distribuição Espacial dos Σ 13 OH-HPAs nas regiões de Curral da Baía de Guanabara.	38
Figura 15. Média das Concentrações dos metabólitos de HPAs individuais na área de currais da Baía de Guanabara.	40
Figura 16. Média das Concentrações dos metabólitos de HPAs individuais por Área de Currais.	41
Figura 17. Estações de Coleta de Sedimento da Baía de Guanabara.	43
Figura 18. Concentração do somatório dos 16 HPAs em Sedimento da Baía de Guanabara.	44
Figura 19. Distribuição de 6 HPAs individuais em sedimentos da região de currais da Baía de Guanabara.	45

Figura 20. Distribuição de 6 metabólitos de HPAs na bile de peixes da espécie *Mugil liza* da região de currais da Baía de Guanabara.

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Condições cromatográficas sistema GPC.	22
Tabela 2. Condições Instrumentais para a Determinação de HPAs em Tecido de Peixe.	24
Tabela 3. Condições Instrumentais para a Determinação de Metabólitos de HPAs em Bile de Peixe por CL/EM/EM.	28
Tabela 4. Dados de Biometria dos espécimes coletados na Baía de Guanabara.	30
Tabela 5. Resultados de HPAs (ng/g peso úmido e peso seco) de amostras de tecido muscular de <i>Mugil liza</i> nas regiões de entrada e meio da Baía de Guanabara.	32
Tabela 6. Resultados de HPAs (ng/g peso úmido e peso seco) de amostras de tecido muscular de <i>Mugil liza</i> na região de fundo da Baía de Guanabara.	33
Tabela 7. Critérios Estabelecidos pelo MDEP – Marine Department of Environment Protection.	35
Tabela 8. Critérios Estabelecidos pela NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration.	35
Tabela 9. Critérios Estabelecidos pela RIDOH - Rhode Island Department of Health.	36
Tabela 10. Concentração de HPAs (peso seco - ng/g) determinados por CG/EM em outras localidades do mundo.	37
Tabela 11. Resultados do somatório dos 13 Metabólitos de HPAs (ng/g de bile) de amostras de Bile de <i>Mugil liza</i> das regiões de currais da BG.	39
Tabela 12. Concentração de Metabólitos em Bile de peixes (ng/g de bile) em regiões distintas.	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo Geral	2
2.2 Objetivos Específicos	2
3 ASPECTOS TEÓRICOS E REVISÃO DA LITERATURA.....	3
3.1 Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	3
3.2 HPAs e sua distribuição no meio ambiente aquático	6
3.3 HPAs em alimentos	7
3.4 Metabólitos de HPAs.....	8
3.4.1 Biotransformação dos HPAs no meio ambiente marinho	8
3.4.2 Fatores que influenciam o metabolismo.....	10
3.4.3 Técnicas analíticas para identificação de metabólitos de HPAs.....	11
4 ÁREA DE ESTUDO	12
4.1 Baía de Guanabara.....	12
5 ESPÉCIE ESTUDADA	15
5.1 <i>Mugil liza</i> Valenciennes, 1836	15
6 MATERIAIS E MÉTODOS	17
6.1 Estratégia Amostral	17
6.1.1. Coleta de Peixes	17
6.2 Limpeza da vidraria	20
6.3 Reagentes e padrões.....	20
6.4 Determinação de HPAs em tecidos de peixes	20
6.4.1 Preparação da amostra e branco	21
6.4.2 Extração	21
6.4.3 Purificação	21
6.4.4. Fracionamento	22
6.4.5 Quantificação.....	23
6.5 Determinação de metabólitos de HPAs em bile de peixe.....	25
6.5.1 Preparação da Amostra.....	27
6.5.2. Análise de metabólitos de HPAs	28
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30

7.1. Análise Biométrica	30
7.2 HPAs em tecido muscular de peixe	31
7.3 Metabólitos de HPAs em bile de peixe	38
7.4 Avaliação de dados de sedimento da Baía de Guanabara	43
8 CONCLUSÕES.....	47
9. RECOMENDAÇÕES.....	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXOS	58

1 INTRODUÇÃO

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) são compostos amplamente distribuídos na natureza. Podem ser introduzidos no meio ambiente por fontes antropogênicas (efluentes domésticos e industriais, as drenagens pluviais urbanas, a exploração e produção de petróleo, a combustão parcial de combustíveis seguida de deposição atmosférica e os derrames acidentais de óleo e derivados) ou naturais (biossíntese de alguns hidrocarbonetos por organismos marinhos ou terrestres, trocas atmosféricas, exsudações naturais de petróleo no oceano e a combustão incompleta durante as queimadas de florestas).

São compostos relativamente pouco biodegradáveis e lipofílicos, tendendo a ser depositados nos sedimentos e conseqüentemente bioacumulados nos tecidos dos organismos aquáticos a eles expostos (Lima, 2001). Entretanto, muitos organismos aquáticos são capazes de metabolizar e excretar HPAs rapidamente. Em algumas espécies a metabolização desses HPAs é muito efetiva, observando-se baixas concentrações desses compostos nos seus tecidos musculares (Kammann, 2007).

Os metabólitos de HPAs formados se acumulam na vesícula biliar, onde serão posteriormente excretados na bile durante o processo de digestão. Desta forma as determinações de metabólitos de compostos aromáticos em bile de peixe proverão importantes informações, indicando a exposição de peixes a esses compostos e conseqüentemente inferir sobre a sua biodisponibilidade na coluna d'água.

Até o presente momento desconhecem-se pesquisas dirigidas ao monitoramento da presença de HPAs em pescados disponíveis no mercado brasileiro para consumo, embora já existam trabalhos que descrevam a ocorrência deste contaminante em outros alimentos como óleos e produtos cárneos.

O presente trabalho fornece informações sobre a concentração de HPAs em tecidos de peixes da espécie *Mugil liza*, vulgarmente conhecido como Tainha, com elevada importância comercial e ecológica, conduzindo à avaliação do nível de exposição desses organismos a tais contaminantes. A área de estudo é a Baía de Guanabara, a segunda maior baía do Brasil, localizada na região metropolitana da cidade do Rio de Janeiro. Trata-se de uma área altamente urbanizada e industrializada, com aporte crônico de hidrocarbonetos através de efluentes domésticos e industriais, drenagens pluviais urbanas e combustão incompleta de combustíveis provenientes de indústrias e transporte automotivo. A Baía de Guanabara foi também cenário de um derramamento acidental de óleo no ano de 2000. (Meniconi, 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo avaliar a contaminação por HPAs em amostras de peixe da espécie *Mugil liza* provenientes da Baía de Guanabara através da identificação e quantificação desses compostos tecido muscular e de seus metabólitos em bile.

2.2 Objetivos Específicos

Esse trabalho tem como objetivos específicos:

- Avaliar a qualidade de peixes da espécie *Mugil liza* provenientes da Baía de Guanabara, através da determinação dos níveis de HPAs em tecido muscular e comparação com níveis de referência internacionais para consumo.
- Determinar as concentrações de metabólitos biliares de HPAs em peixes da espécie *Mugil liza* da Baía de Guanabara, utilizando a técnica analítica CL/EM/EM.
- Avaliar os níveis de metabólitos de HPAs da espécie de peixe estudada, coletadas em currais de pesca, na região de fundo da Baía de Guanabara.
- Comparar as concentrações de metabólitos biliares de HPAs da Baía de Guanabara encontradas neste estudo com outras áreas do mundo.
- Avaliar a distribuição dos metabólitos biliares individuais de HPAs em peixes da espécie *Mugil liza* da região estudada, identificando os compostos de maior contribuição.
- Verificar a existência de correlação entre os teores de HPAs no tecido e de seus metabólitos na bile dos peixes estudados.
- Verificar a existência de correlação entre os teores de metabólitos de HPAs na bile dos peixes da Baía de Guanabara com os teores de HPAs em sedimento da região.
- Avaliar a utilização da análise de metabólitos de HPAs como ferramenta adicional de monitoramento e avaliação de ecossistemas marinhos e estuarinos.

3 ASPECTOS TEÓRICOS E REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) são uma família de moléculas constituídas unicamente de carbono e hidrogênio, arranjos em dois ou mais anéis benzênicos condensados, cada anel contendo 5 ou 6 átomos de carbono e podem apresentar ramificações constituídas de cadeias hidrocarbônicas alifáticas (MAZEAS, 2004).

. Os HPAs mais estudados na literatura recente são os compostos de 2 até 6 anéis aromáticos. Os compostos heterocíclicos contendo enxofre como os benzotiofenos, dibenzotiofenos e suas séries alquiladas têm sido também investigados face sua igualmente extensa ocorrência em amostras ambientais e similaridade química e funcional aos HPAs. (MENICONI, 2007)

. A Figura 1 ilustra as fórmulas estruturais e a nomenclatura IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) dos 16 HPAs prioritários segundo a agência de proteção ambiental americana (US-EPA: *Environmental Protection Agency*). A Figura 2 apresenta as estruturas e nomes dos HPAs mais frequentemente reportados na literatura, incluindo os 16 HPAs prioritários, os compostos alquilados, a série dos dibenzotiofenos, o benzo(e)pireno e o perileno.

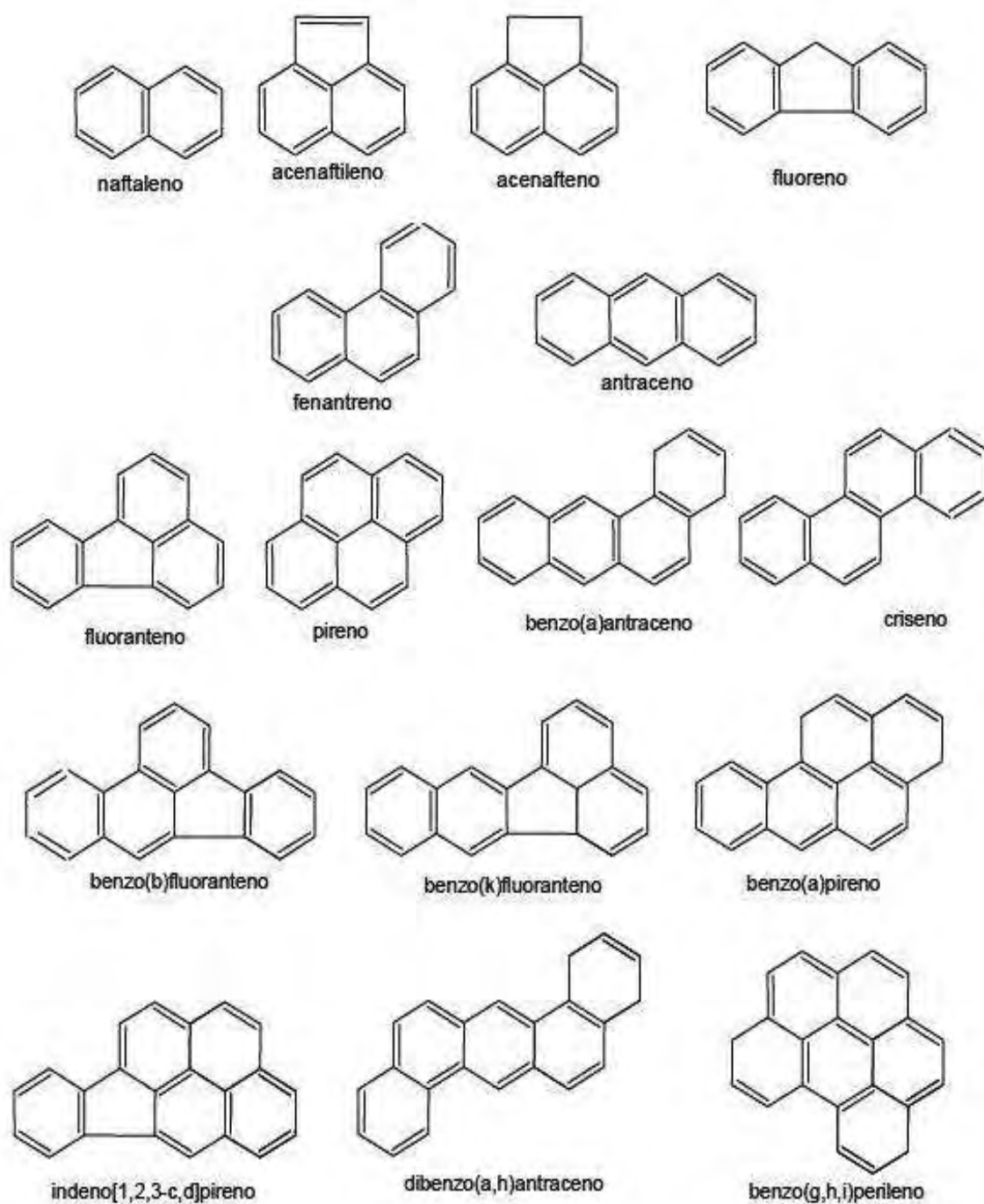


Figura 1. Fórmulas estruturais e a nomenclatura IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) dos 16 HPAs prioritários segundo a agência de proteção ambiental americana (US-EPA: *Environmental Protection Agency*).

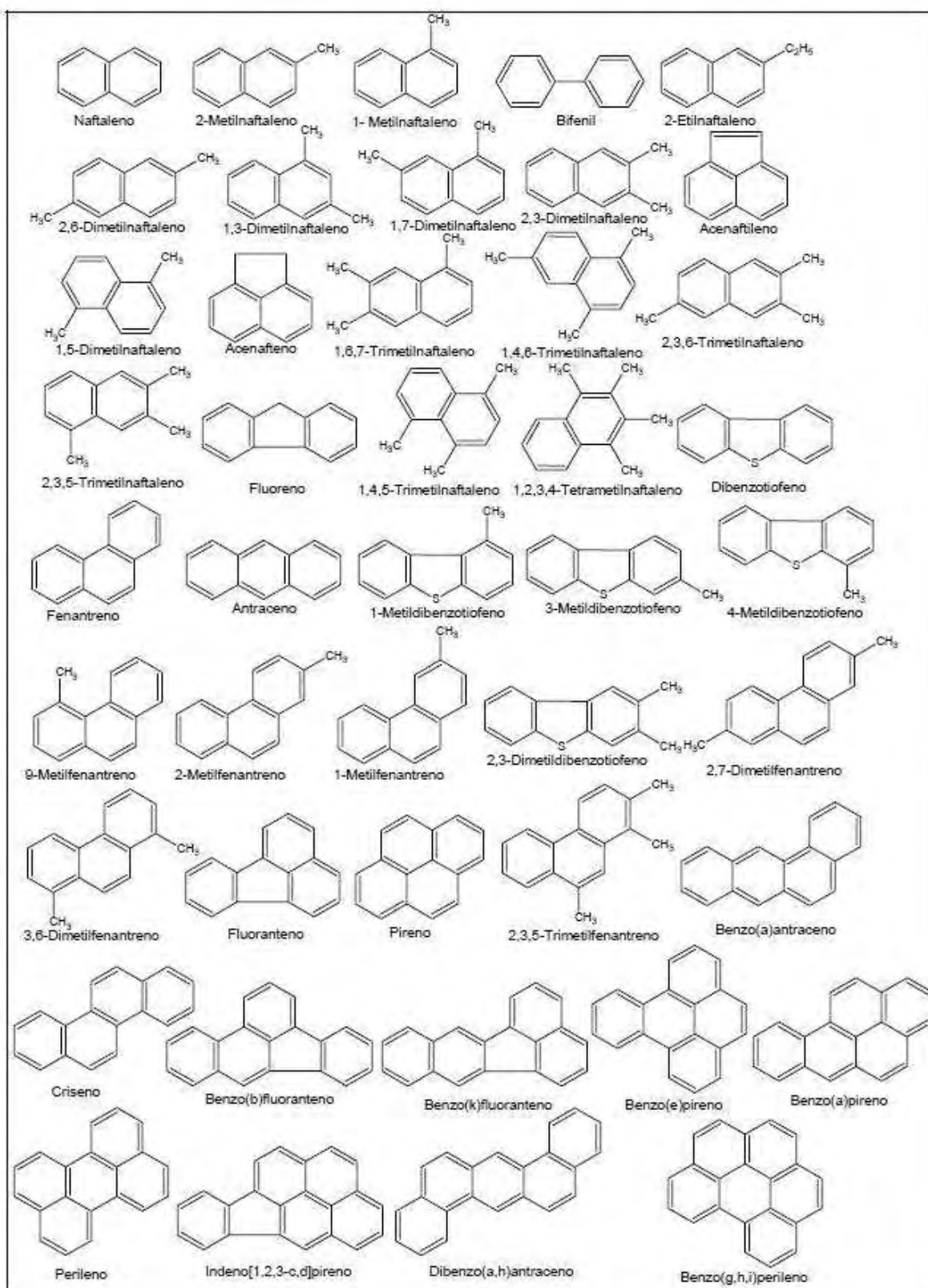


Figura 2. Estruturas e nomenclatura de HPAs parentais e alquilados mais frequentemente investigados na literatura (apud SILVA, 2005).

3.2 HPAs e sua distribuição no meio ambiente aquático

A distribuição dos hidrocarbonetos nos sistemas aquáticos é controlada por diversos processos físicos, químicos e biológicos. De acordo com Neff (1979), a maioria dos HPAs que entra nos sistemas aquáticos permanece relativamente próxima às suas fontes, decrescendo quase que logaritmicamente com a distância da origem. Portanto, a grande maioria dos HPAs encontrados nos ambientes aquáticos está localizada em rios, estuários e águas costeiras (SILVA, 2005).

O lançamento de HPAs em ambientes aquáticos ocorre principalmente pela deposição atmosférica, lançamento de esgotos (pluviais, domésticos e industriais), derrames de petróleo e derivados. Entretanto, fontes naturais como a síntese biológica, erupções vulcânicas, queima de florestas, formação de combustíveis fósseis e a exsudação natural do solo, também geram quantidades significativas destes compostos (BARBOSA, 2005)

Devido à sua natureza hidrofóbica, os HPAs provenientes de diversas fontes são rapidamente adsorvidos no material particulado orgânico e inorgânico, sendo a maioria deste material depositado no sedimento (VARANASI *et al.*, 1989). A lixiviação ou atividade biológica no sedimento podem remobilizar uma pequena fração deste sedimento contendo HPAs para a coluna d'água. As concentrações relativas dos HPAs nos ecossistemas aquáticos são geralmente mais altas nos sedimentos, intermediárias na biota e baixas na coluna d'água (LIMA, 2001). Peixes que vivem em ambientes contaminados por HPAs absorvem esses compostos através da pele e guelras ou pela ingestão de sedimentos ou alimentos contaminados (RUDDOCK, 2002).

3.3 HPAs em alimentos

A presença de HPAs em alimentos pode ocorrer devido à deposição dessas substâncias presentes no ar na superfície das plantas, e pela introdução através das etapas de processamento térmico como secagem, cozimento e defumação (EUROPEAN COMMISSION, 2002; CODEX ALIMENTARIUM COMMISSION, 2005). No caso dos peixes, de uma maneira geral, a contaminação dos seus tecidos ocorre durante a sua alimentação, quando o organismo entra em contato com o sedimento contaminado. A ingestão desses tecidos pode representar um risco aos seres humanos quando estes apresentam elevadas concentrações de HPAs (FAZIO, 1983).

Traços de HPAs têm sido detectados em diversos tipos de alimentos, como óleos vegetais, frutas, frutos do mar, carnes, peixes defumados e café (ORECCHIO *et al.*, 2009). O *Scientif Committee on food*, tem avaliado riscos à saúde dos consumidores associados à ingestão HPAs em alimentos. De acordo com esse comitê, quinze HPAs foram identificados como mutagênicos e carcinogênicos, são eles: benzo[a]antraceno, ciclopenta[cd]pireno, chriseno, 5-metilcriseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[j]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[g,h,i]perileno, dibenzo[a,l]pireno, dibenzo[a,e]pireno, dibenzo[a,i]pireno, dibenzo[a,h]pireno (EUROPEAN COMMISSION, 2001).

Peixes são importantes fontes de proteínas (peixes fornecem 17% de proteína animal e 6% do total de proteínas consumidas pelo homem), vitaminas e outros nutrientes essenciais como o ômega 3, que trazem uma série de benefícios à saúde humana. Apesar dos benefícios à saúde, vem surgindo uma preocupação a respeito do freqüente consumo desses alimentos e o possível risco de exposição a contaminantes químicos pela sua ingestão (BINELLI e PROVINI, 2004; DOMINGO *et al.*, 2007; SIOEN *et al.*, 2008), já que este alimento representa uma importante fonte de ingestão diária de HPAs (FALCÓ *et al.*, 2004).

3.4 Metabólitos de HPAs

3.4.1 Biotransformação dos HPAs no meio ambiente marinho

O caráter hidrofóbico dos HPAs resulta na acumulação desses compostos nos tecidos, após a exposição e assimilação pelos organismos marinhos, como ocorre no caso dos moluscos bivalves. Alguns invertebrados e todos os vertebrados aquáticos são capazes de metabolizá-los através de sistemas enzimáticos, compostos pelo sistema monooxigenase do citocromo P450 (ARIESE *et al.*, 1993; GAGNON e HOLDWAY, 1999; JONSSON *et al.*, 2003). Os compostos são transformados em produtos polares (Figura 3), mais solúveis em água e, portanto, excretáveis, permitindo a desintoxicação do organismo. Subsequentemente, esses metabólitos de HPAs formados são concentrados e excretados através da bile (VARANASI *et al.*, 1989). No entanto, estes derivados oxidados são geralmente mais tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos do que os HPAs parentais (BAIRD, 1999) e são indicativos de exposição recente do organismo a esses contaminantes (MCDONALD, 1992).

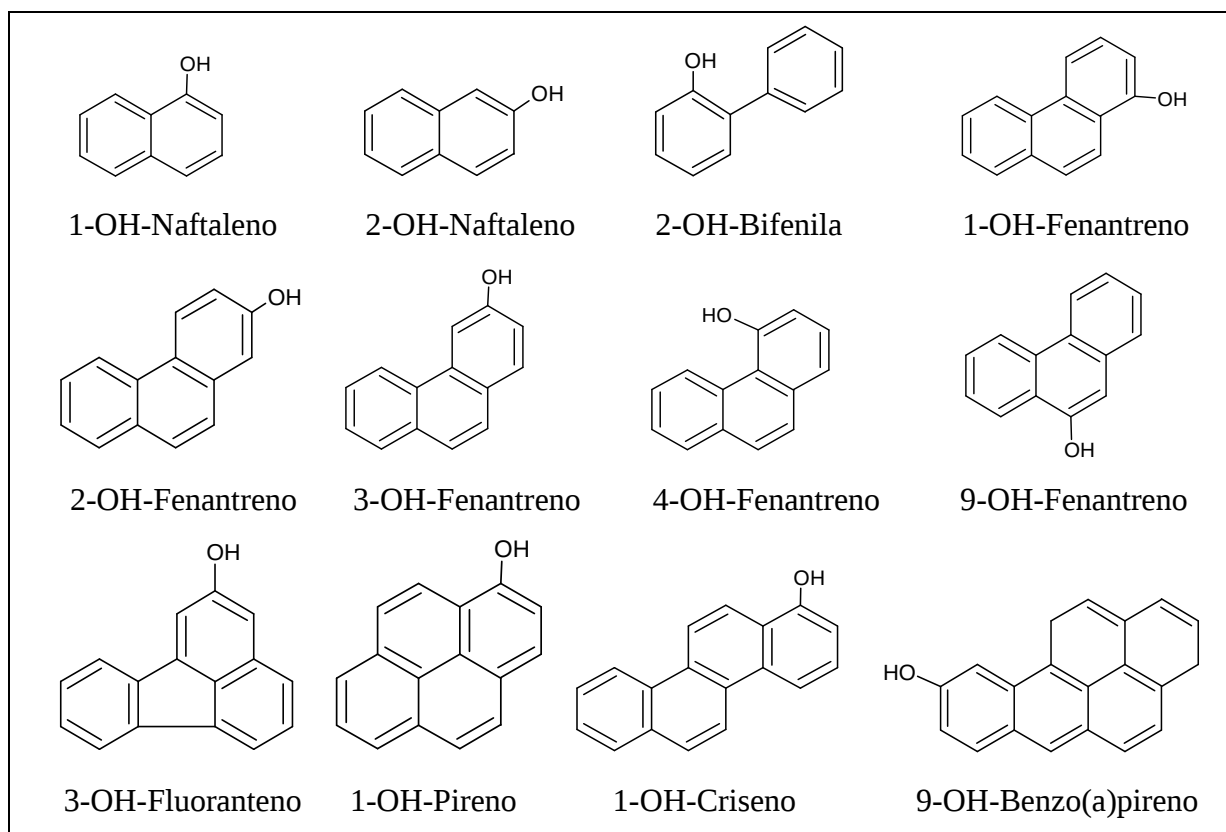


Figura 3. Estrutura e nomenclatura dos metabólitos livres de HPAs.

O processo enzimático de ativação metabólica dos HPAs catalisados pelo citocromo P450 é realizado em 2 etapas (Figura 4). A primeira etapa é conhecida como fase de funcionalização ou fase I, onde inicialmente os HPAs transformam-se em compostos eletrolíticos tais como epóxidos, fenóis, dihidrodíols, quinonas, díols, trióis e quatríols através da ação de enzimas mono-oxigenases citocromo P450 (BUHLER e WILLIAMS, 1989). Em seguida, na etapa de conjugação, ou fase II, os compostos formados na fase I se ligam com grupamentos hidrofílicos tais como o ácido glucorônico, sulfatos, glutatona, formando produtos conjugados hidrofílicos para favorecer a sua excreção (FOUREMAN, 1989). Os principais conjugados formados por peixes são os glucoronídeos e glutatiónídeos (MAZEAS, 2004).

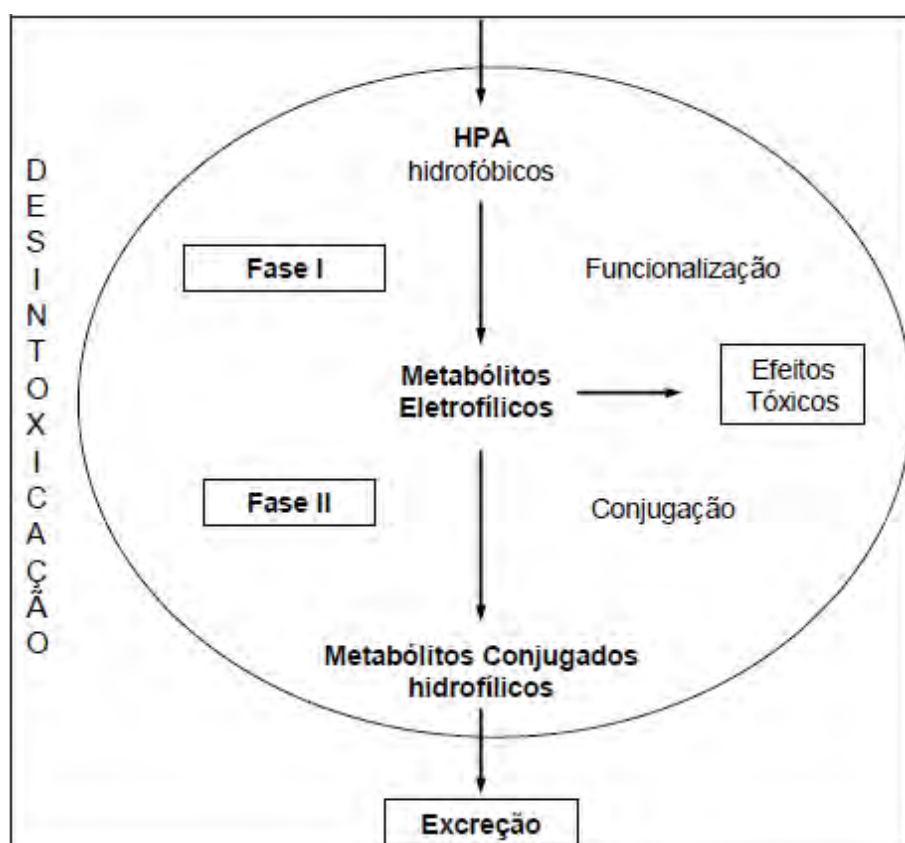


Figura 4. Esquema da ativação metabólica de HPAs através de oxidação por reação enzimática. (apud MENICONI, 2007).

Em um ambiente contaminado, peixes são expostos a diferentes tipos de HPAs, e cada um deles pode ser biotransformado em um ou mais metabólitos, de acordo com o grupo hidrofílico ligado a molécula durante a fase 2 do metabolismo. Dependendo da fonte de contaminação, petrogênica ou pirogênica, o perfil dos metabólitos pode ser muito diferente. HPAs derivados de contaminação por óleo são caracterizados pela presença de compostos

aromáticos contendo 2 e 3 anéis, com um ou mais substituintes alquil. HPAs formados durante processos de combustão incompleta tendem a conter sistemas aromáticos maiores (3-7 anéis), também sem substituintes alquil. Os dois tipos de contaminação podem ser encontrados em ecossistemas aquáticos e podem resultar em diferentes metabólitos de HPAs em bile de peixe (ARIESE et al., 2005).

Dependendo da estrutura química e do nível de exposição, os HPAs e seus metabólitos possuem potencial para produzir efeitos tóxicos, mutagênicos e/ou carcinogênicos em peixes e outros vertebrados, incluindo humanos. Por esta razão, o acréscimo nos níveis de contaminação em sistemas aquáticos ocorridos nas últimas décadas tem sido causa de preocupação (RUDDOCK, 2002).

3.4.2 Fatores que influenciam o metabolismo

Diversos fatores químicos, bioquímicos, fisiológicos e ambientais podem afetar as taxas de ingestão, metabolização e excreção de HPAs em organismos aquáticos. A literatura fornece importantes dados sobre essas variáveis que influenciam o metabolismo como a rota de exposição (VARANASI et al., 1989), fatores ambientais como temperatura (BUHLER e WILLIAMS, 1989), diferença entre espécies (ESCARTIN e PORTE, 2000), status alimentar do peixe (AAS et al, 2000) e maturidade sexual (MAZEAS, 2004).

Os principais fatores que afetam a disposição dos HPAs em diferentes espécies de peixes é a sua habilidade de metabolizar HPAs e o percentual de lipídios em seus tecidos musculares. A temperatura do ambiente regula uma variedade de funções bioquímicas e metabólicas, pode afetar a permanência de HPAs de baixo peso molecular na água devido à diminuição da biodegradação e volatilização desses compostos, aumentando a sua disponibilidade e consequentemente sua concentração nos tecidos dos peixes a eles expostos (VARANASI et al., 1989).

Alguns estudos têm demonstrado que as interações a outros xenobióticos em conjunto com os HPAs, podem alterar a disposição desses HPAs em peixes, já que esses xenobióticos podem agir diretamente nos sistemas fisiológicos e bioquímicos do organismo. Estudo realizado por Stein *et al.* (1987) demonstrou que a acumulação de benzo(a)pireno (BaP) no fígado e na bile de peixes da espécie *Parophrys vetulus* foi significativamente mais alta para

peixes expostos a BaP em conjunto com outros compostos que quando expostos somente a BaP.

3.4.3 Técnicas analíticas para identificação de metabólitos de HPAs

A determinação de metabólitos de HPAs na bile, como biomarcadores de exposição a HPAs tem várias vantagens sobre outras técnicas de avaliação. Estes compostos podem ser medidos semi-quantitativamente e com muita facilidade por meio das técnicas de detecção direta de fluorescência, como por exemplo, detecção de fluorescência fixa e fluorescência sincronizada de varredura. Estas técnicas são excelentes para a detecção rápida dos níveis de exposição global a HPAs, porém, menos adequadas para a determinação de compostos individuais.

A identificação e determinação de metabólitos individuais de HPAs requerem intensivos métodos laboratoriais para preparação das amostras para análises. A preparação das amostras inclui normalmente um tratamento enzimático para produzir compostos hidroxilados livres, seguido de extração ou centrifugação e ocasionalmente derivatização dos grupos hidroxilados. As técnicas analíticas mais utilizadas para identificação e quantificação de metabólitos de HPAs individuais são a CLAP-F e a CG/EM. Outras técnicas ainda não utilizadas em rotina em programas de monitoramento de exposição à HPAs, como a CLAP/MS e a CL/EM/EM são também utilizadas para a determinação desses compostos (ARIESE *et al*, 2005b).

Os metabólitos dos HPAs têm sido extensamente analisados na bile de peixes através de metodologias já consagradas, utilizando as técnicas descritas acima (KRAHN *et al*, 1984, KRAHN *et al.*, 1987, KRAHN *et al.*, 1992, VAN DER OOST *et al.*, 1996, LAW *et al.*, 1994, RUDDOCK *et al.*, 2002, STEPHENSEN *et al.*, 2000, RICHARDSON *et al.*, 2001, JONSSON *et al*, 2003, MAZEAS, 2004, BUDZINSKI *et. al*, 2004, SILVA, 2005, SILVA *et al.*, 2006, LE DÛ *et al.*, 2006, VUORINEN *et al.*, 2006) em programas de monitoramento ambiental.

4 ÁREA DE ESTUDO

4.1 Baía de Guanabara

A Baía de Guanabara localiza-se entre os paralelos 22°40' S e 23°00' S e os meridianos de 43°00' W e 43°20' W (Figura 5). É a segunda maior baía do país, possuindo cerca de 400 km² de área e uma bacia de drenagem de cerca de 4.080 km², incluindo 45 rios (KJERFVE *et al.*, 1997). Encontra-se em uma região de clima tropical úmido com fortes influências marinhas.

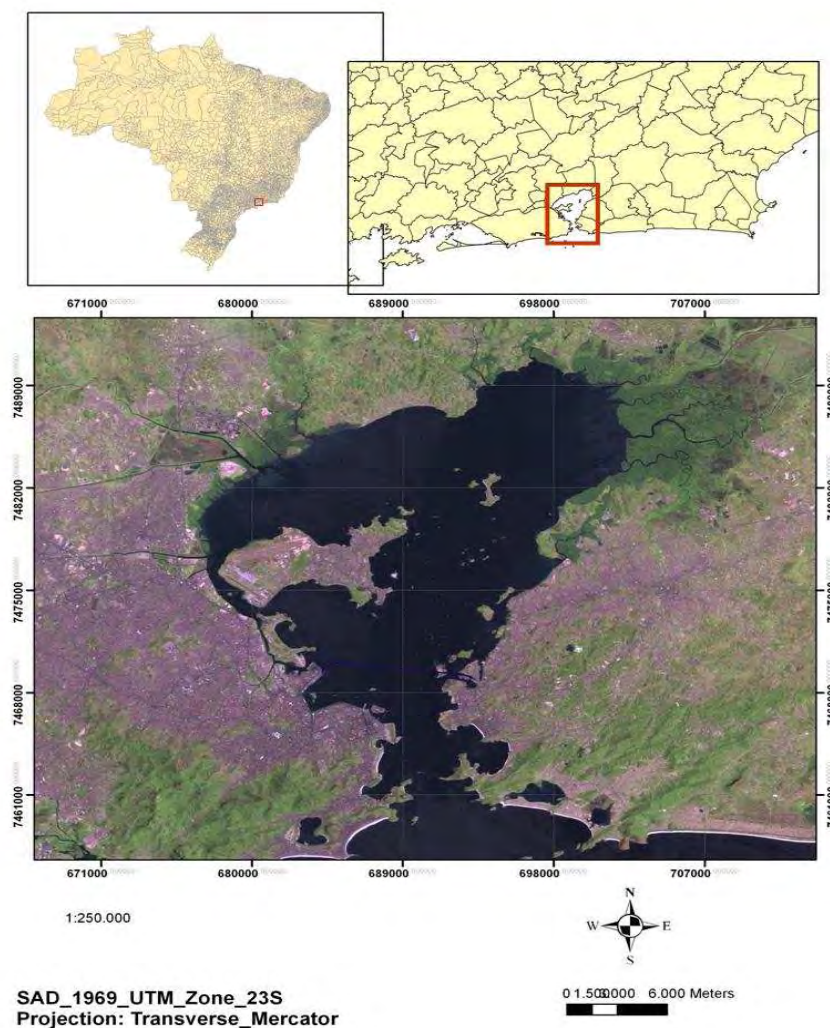


Figura 5. Localização da Baía de Guanabara.

Trata-se de um ecossistema estuarino altamente urbanizado e industrializado que abrange, parcialmente ou totalmente, os municípios do Rio de Janeiro, Nova Iguaçu, Belford Roxo, Duque de Caxias, Magé, Petrópolis, Itaboraí, São Gonçalo, Niterói, Rio Bonito, Teresópolis e Cachoeiras de Macacu, abarcando uma concentração urbana de quase 10 milhões de habitantes (RIO DE JANEIRO- SEMADS, 2005).

Uma das principais fontes de poluição na região da bacia hidrográfica da Baía de Guanabara são os resíduos domésticos provenientes das áreas urbanas. Estes indicam uma carga orgânica na faixa de 453 a 465 toneladas de DBO/dia, correspondendo a aproximadamente 22 m³/s de efluente doméstico, além de cerca 13.600 toneladas/dia de lixo sólido público e domiciliar (Amador, 1998, ZEE, 2000, RIO DE JANEIRO, 2005). Segundo relatório de 2005 do Governo do Estado do Rio de Janeiro, as estimativas atuais de remoção de DBO são de 187 toneladas/dia, cerca de 40% do total gerado na região.

Além da alta densidade populacional, a baía possui o segundo pólo industrial do país e, segundo Barrocas & Wasserman (1995) e Perin e colaboradores (1997), o setor industrial contribui com 25% da poluição orgânica e mais de 90% da poluição por substâncias tóxicas e metais pesados. Dados mais recentes (RIO DE JANEIRO, 2005) reportam lançamento de cerca 0, 266 m³/s de efluentes industriais nos rios da região (considerando as 60 indústrias mais poluidoras responsáveis pela geração de aproximadamente 70% de toda contaminação de origem industrial local), o que corresponde a uma carga orgânica de 3,1 toneladas de DBO/dia. Desta forma, a carga orgânica industrial lançada na bacia da baía é cerca de 2 ordens de grandeza inferior ao lançamento de despejos domésticos.

Existem evidências científicas de que a Baía de Guanabara mantém um estado crônico de contaminação por hidrocarbonetos de petróleo e por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em geral (FERREIRA, 1995; HAMACHER, 1996; LIMA, 1996; PETROBRAS, 2010). Este estado decorre, principalmente, da introdução permanente e crônica de resíduos provenientes das atividades de transporte marítimo e automotivo, de escoamento de efluentes domésticos e urbanos, de liberações de água de lastro e lavagem de tanques, da queima de materiais orgânicos, das emissões industriais e automotivas e da introdução de vazamentos acidentais de petróleo ou seus derivados, de cunho menos frequente.

No contorno da baía existem numerosas comunidades pesqueiras, nas praias, na ilhas e inclusive na área urbana. Essas comunidades se dedicam à pesca com a utilização de variados petrechos, com uma expressiva produção de pescado, que vem sofrendo expressiva redução ao longo dos anos devido à poluição e sobrepesca. Dentre os diversos “sistemas” pesqueiros coexistentes, destacam-se as diferentes pescas artesanais (redes de emalhe, cercadas, linhas),

voltadas para a tainha, corvina, bagre, espada, parati e outros peixes, envolvendo a maior parte do contingente de barcos e pescadores (IBAMA, 2007), e 208 currais de pesca em operação instalados na baía (JABLONSKI et al., 2006).

5 ESPÉCIE ESTUDADA

5.1 *Mugil liza* Valenciennes, 1836

Os peixes da família Mugilidae são vulgarmente conhecidos como tainhas ou paratis no sul e sudeste do Brasil. Esses peixes apresentam ampla distribuição em águas costeiras, nas regiões tropicais e subtropicais. Muitas espécies vivem em lagunas costeiras e estuários e algumas penetram em rios.

A espécie *Mugil liza* foi primeiro descrita por Valenciennes em 1836 (Figura 6). Esta espécie possui corpo alongado, fusiforme e robusto, com estrias escuras longitudinais alternadas com estrias claras e ausência quase total de escamas nas nadadeiras anal e segunda dorsal. Série com 29 a 34 escamas (contadas a partir da margem superior do opérculo até a base caudal) e escamas ciclóides (SPILMAN, 2000). A população atinge a maturação gonadal total (L_{500}) com 550mm e 570mm de comprimento total para machos e fêmeas (ALBIERI, 2009).



Figura 6. Ilustração de um exemplar da espécie *Mugil liza*.

São encontrados normalmente formando cardumes em águas estuarinas relativamente calmas. Migram em grandes cardumes na época de reprodução e desovam em águas abertas (zonas costeiras) próximas à entrada de baías e estuários. Juvenis e adultos alimentam-se de algas, microrganismos e detritos encontrados no lodo e na areia, que por sua vez, acabam sendo ingeridos juntos durante a sua alimentação.

Sua carne do tipo gordurosa é considerada de boa qualidade e possui grande importância comercial. Frequentemente nos mercados é comercializada fresca ou salgada. São

capturadas principalmente com rede de espera, redes de cerco, arrastão de praia, tarrafa e curral de pesca.

O estado do Rio de Janeiro com uma produção de 82.528,5 t é o maior produtor de pescado da região Sudeste e registrou um crescimento na produção de pescado de 23,3%, em 2007. As espécies de peixes que mais contribuíram no crescimento da produção foram: a corvina com 162,8%, a cavalinha com 98,0%, a sardinha-verdadeira com 74,6% e a tainha com 52,2% (IBAMA, 2007).

A tainha da espécie *Mugil liza* tem alto potencial para ser utilizada como bioindicador da região da Baía de Guanabara, já que pode ser facilmente capturada em praticamente todas as áreas da Baía, em diversas épocas do ano, pela fácil localização da vesícula biliar e pelo hábito alimentar da espécie. O hábito alimentar é uma característica de extrema importância, já que os peixes desta espécie, ao se alimentarem, ingerem juntamente com os alimentos grandes quantidades de sedimento (SZPILMAN, 2000), o que favorece a absorção dos HPAs presentes no sedimento e pode fornecer uma relação do status de contaminação da área em que vivem.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Estratégia Amostral

6.1.1. Coleta de Peixes

O presente estudo foi realizado no período compreendido entre os meses de agosto e outubro de 2008 e contemplou a coleta de amostras de peixe da espécie *Mugil liza*, popularmente conhecida como tainha, em seis áreas localizadas nas regiões de entrada (Canal), meio (Ilha do Governador e Gradim) e fundo da baía de Guanabara (Curral Limão, Curral Olaria e Curral APA), representando condições ambientais distintas. A Figura 7 ilustra estas áreas.

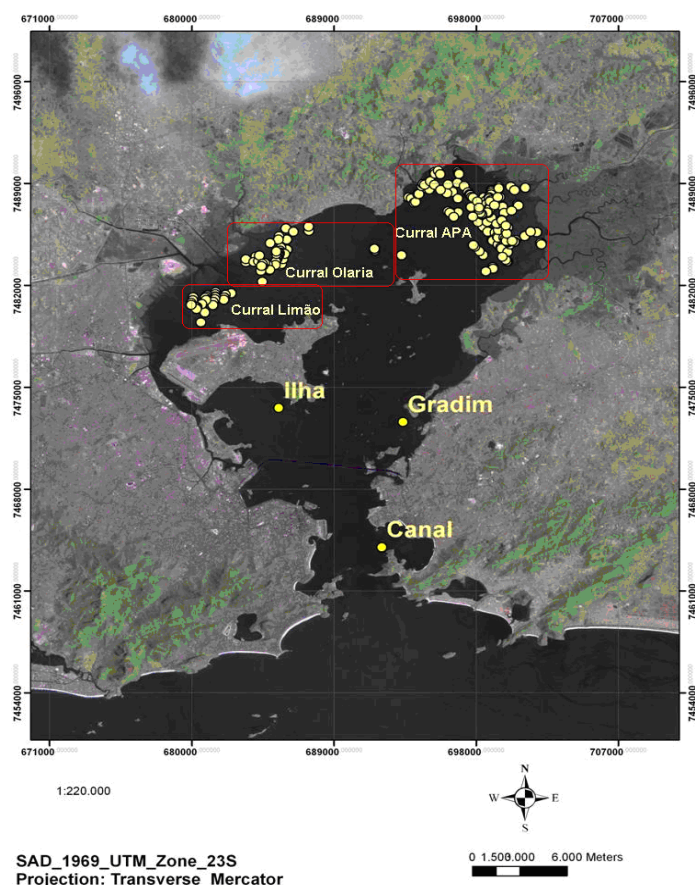


Figura 7. Áreas de coleta dos Peixes e currais de pesca na Baía de Guanabara.

Os peixes da espécie *Mugil liza* provenientes das regiões de entrada (Canal) e meio (Ilha e Gradim) da baía foram capturados utilizando redes de espera. Os indivíduos provenientes do fundo da baía foram coletados em currais de pesca da região, divididos em três áreas (Curral Limão, Curral Olaria e Curral APA). O número de indivíduos capturados variou entre 7 e 12 para cada área amostrada.

Para as amostras coletadas na região de fundo (Curral Limão, Curral Olaria e Curral APA) da baía, foram realizadas as determinações de HPAs no tecido muscular e de metabólitos de HPAs na bile. Entretanto, para as amostras coletadas nas regiões de entrada e meio da Baía, foi realizada apenas a determinação de HPAs em seus tecidos musculares.

Após a captura foi realizada a biometria e dissecção dos peixes para a retirada da vesícula biliar e do tecido muscular. No Anexo A podem ser encontrados os valores de biometria para os espécimes capturados.

As amostras de bile foram transferidas para frascos criogênicos de 2,0 mL previamente rotulados, imediatamente congelados em N₂ líquido e em seguida, armazenados em ultra-freezer (-80°). As amostras de tecido muscular foram acondicionadas em frascos de alumínio previamente descontaminados com diclorometano e mantidos em freezer a -20 °C até a realização das análises. As etapas de amostragem e processamento das amostras estão esquematizadas por área na Figura 9.

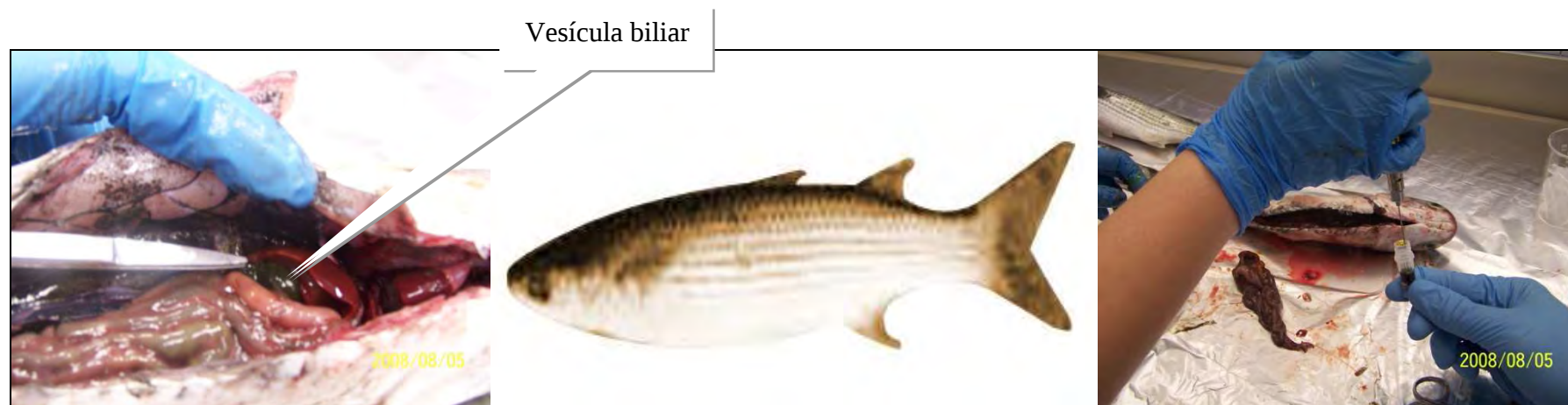


Figura 8. Extração da bile em um exemplar do peixe *Mugil liza*.

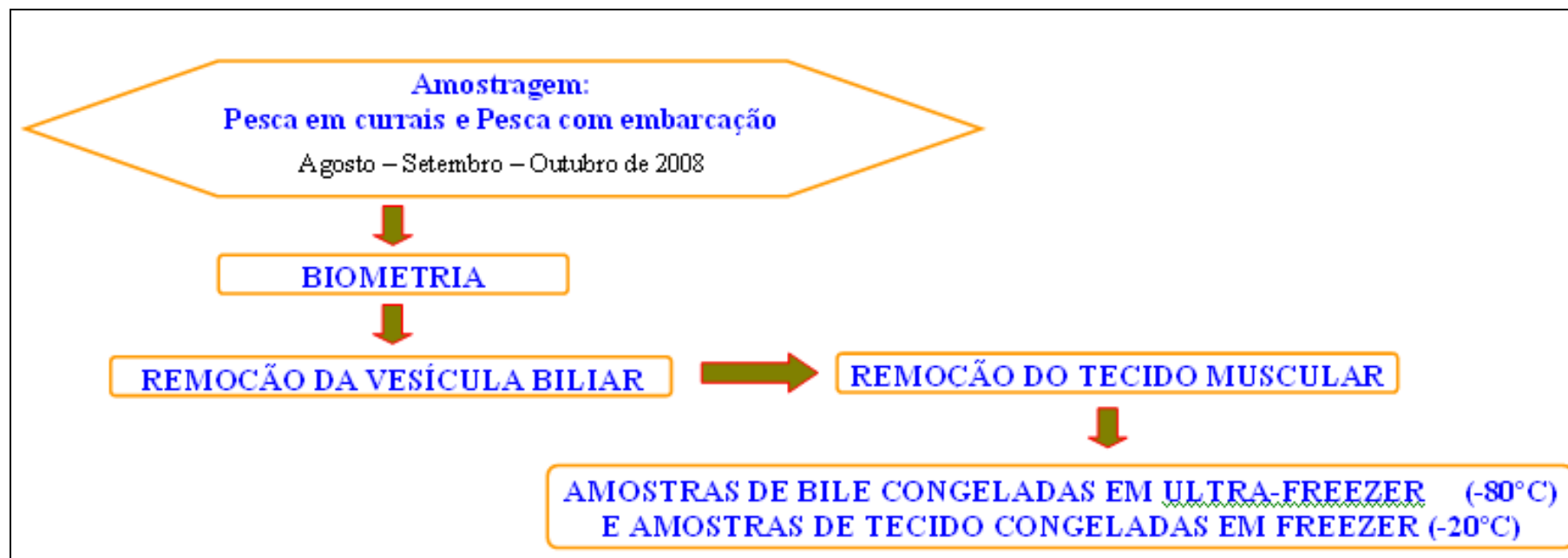


Figura 9. Fluxograma das etapas de amostragem e processamento das amostras de *Mugil liza* da Baía de Guanabara.

6.2 Limpeza da vidraria

Toda a vidraria e objetos utilizados foram deixados em banho de Extran alcalino por 4 horas (Merck). O material foi então enxaguado em água corrente e por fim em água ultra pura. Todo o material, com exceção do material volumétrico, foi seca em estufa e posteriormente queimada em mufla por 4 horas a 400°C para eliminação de qualquer resíduo orgânico, e devidamente armazenado para o uso. O material volumétrico, pinças e espátulas foram lavadas 3 vezes com diclorometano grau resíduo antes da sua utilização.

6.3 Reagentes e padrões

Foram utilizados apenas solventes “grau resíduo”, acetona, ciclohexano, hexano, diclorometano e metanol, adquiridos da Tedia e Mallinckrodt. Os padrões de HPAs e seus metabólitos foram adquiridos da Sigma, EUA, Dr. Ehrenstorfer (Alemanha) e Accustandard (EUA). O sulfato de sódio foi queimado em mufla por 4 horas a 400°C, armazenado em frasco de vidro e estocado em dessecador. A lã de vidro foi lavada 3 vezes com diclorometano grau resíduo no momento do uso.

6.4 Determinação de HPAs em tecidos de peixes

A determinação de HPAs em tecido de peixe foi baseada nos métodos EPA 3540C (Extração), EPA 3640A (Remoção de Lipídios) e EPA 8270D (Análise Cromatográfica), com algumas modificações. Foram analisados 7 indivíduos de peixe de cada área onde se realizou a amostragem. Nos tópicos seguintes serão descritas todas as etapas do procedimento analítico.

6.4.1 Preparação da amostra e branco

Foram pesados cerca de 5 g de tecido úmido e 15 g de sulfato de sódio anidro. Estes foram homogeneizados através de maceração em gral e pistilo, transferidos para um cartucho de celulose previamente descontaminado e em seguida, com o objetivo de acompanhar a recuperação dos HPAs, foi adicionado o padrão subrogado p-terfenil-d₁₄ (50 µL de solução 10 ng/mL). Foi preparado também um branco analítico contendo apenas 15g de sulfato de sódio, para o acompanhamento de eventuais problemas de contaminação.

6.4.2 Extração

Procedeu-se a extração da amostra em Soxhlet por 24h com 100 mL de diclorometano. O extrato orgânico foi então concentrado a 1mL utilizando um concentrador do tipo Turbo Vap 500®.

6.4.3 Purificação

A purificação dos extratos foi realizada em duas etapas. A primeira foi um pré-fracionamento por cromatografia líquida em coluna aberta (20 g de alumina neutra desativada a 2 % em coluna de vidro de 30 cm de comprimento com 2,2 cm de diâmetro interno), onde os extratos foram eluídos com 100 mL de diclorometano para a retirada dos lipídios. Após a eluição o extrato foi concentrado para 1 mL utilizando o concentrador Turbo Vap 500® e foi realizada a troca do solvente adicionando 30 mL de mistura de ciclo-hexano:acetona 7:3 e concentrando novamente o extrato para 1 mL. Essa troca de solvente foi necessária para adequar o extrato à cromatografia de permeação em gel.

A segunda etapa foi dada por cromatografia por permeação em gel (GPC), utilizando um cromatógrafo preparativo formado pelos módulos: bomba de eluentes preparativa *Waters* mod. 600, detector UV/VIS Agilent série 1200, capilares em PTFE, duas válvulas de seis vias

(para injeção da amostra e para seleção do extrato de HPAs) e duas colunas cromatográficas, conforme as condições descritas na Tabela 1.

Após a eluição em GPC o extrato resultante foi concentrado para 1 mL e realizada a troca do solvente adicionando 30 mL de hexano e concentrando o extrato resultante para 1 mL utilizando o concentrador Turbo Vap 500®. Essa troca de solvente foi necessária para adequar o extrato à cromatografia em sílica-alumina.

Tabela 1. Condições cromatográficas sistema GPC.

Composição da fase móvel	Ciclo-hexano:acetona 7:3, vazão: 4,0 mL/min (isocrática)
Composição da fase estacionária	Duas colunas cromatográficas <i>EnviroGel GPC Clean-up</i> com dimensões de 19 x 150 mm, 19 x 300 mm, partícula esféricas de 15 µm, faixa de massa molecular 100 – 10000 Da, referência <i>Waters</i> nº 186001915 e 186001916, nº de lote e pré-coluna com dimensões de 4,6 x 30 mm, referência <i>Waters</i> nº 186001914.
Volume do <i>loop</i>	2 mL
Célula UV-Vis	Caminho óptico 10 mm
Comprimento de onda	254 nm

6.4.4. Fracionamento

O extrato isento de lipídios foi submetido a uma nova etapa de clean-up para separação das frações aromáticas e alifáticas, utilizando-se cromatografia líquida em coluna de vidro de 30 cm de comprimento com 1,3 cm de diâmetro interno, contendo sílica/alumina (10 g de alumina desativada a 2 % e 20 g de sílica desativada a 5%). Inicialmente a coluna foi eluída com 50 mL de hexano para a retirada dos hidrocarbonetos alifáticos (fração descartada). A fração contendo os HPAs foi eluída em seguida com a adição de 200 mL de mistura hexano: diclorometano (1:1). O extrato contendo os HPAs, foi concentrado em TurboVap 500®, em seguida avolumado a 1 mL e adicionados 50 µL da mistura de padrões internos de HPAs deuterados (naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d12) na concentração de 10 ng/mL para quantificação. Seguiu-se então a injeção

desses extratos no CG/EM para a determinação dos 16 HPAs prioritários e homólogos alquilados.

6.4.5 Quantificação

A metodologia utilizada para a determinação dos HPAs, por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas, seguiu, com algumas modificações, o método EPA-8270D. O equipamento foi calibrado utilizando-se curvas de calibração em 15 níveis de concentração diferentes (0,002 a 2,000 µg/mL). Essas curvas foram divididas em curva baixa (0,002 a 0,100 µg/mL) e curva alta (0,100 a 2,000 µg/mL). A quantificação foi realizada por padronização interna. A Tabela 2 mostra as condições instrumentais utilizadas na determinação dos HPAs individuais.

Devido à dificuldade de obtenção de padrões de HPAs alquilados, estes foram determinados utilizando-se a curva de calibração do homólogo não alquilado, com a exceção do 1 e 2 metil-naftaleno, os quais foram incluídos nas curvas de calibração. No Anexo B pode ser encontrada a Lista dos HPAs analisados por CG-EM em Tecido Muscular de *Mugil liza*, suas abreviaturas, os padrões internos de quantificação, o padrão de recuperação (surrogate) e as razões massa sobre carga (m/z) utilizadas para sua detecção por CG-EM. O Anexo C contém os Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ) em ng/g para cada composto determinado.

A Figura 10 consiste em um Espectro de massas de HPAs obtido pela injeção dos respectivos padrões em CG/EM.

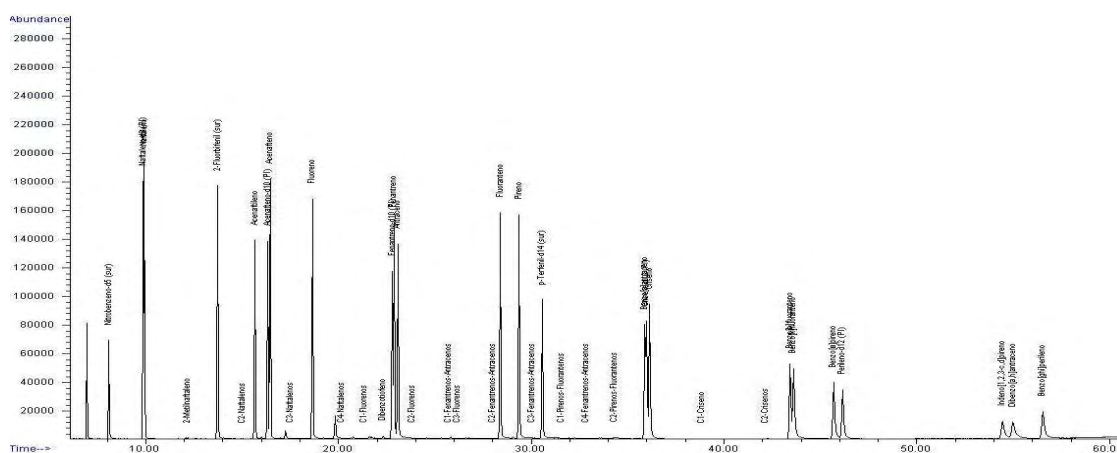


Figura 10. Espectro de Massas de padrões de HPAs obtido por CG/MS.

Tabela 2. Condições Instrumentais para a Determinação de HPAs em Tecido de Peixe.

CG Agilent Technologies 7890A	
Equipamento	EM Agilent Technologies 5975C inert XL MSD
Injetor automático 7683B Agilent Technologies	
Coluna	J&W DB-5ms (30 m, 0,25 mm e 0,25 μ m)
50 °C durante 5 min	
50 °C·min ⁻¹ até 80 °C	
Programa de temperatura	6 °C·min ⁻¹ de 80 °C a 280 °C
280 °C durante 25 min	
Gás de Arraste	Hélio 1,2 mL·min ⁻¹
Volume de Injeção	2 μ L

6.5 Determinação de metabolitos de HPAs em bile de peixe

As amostras provenientes das três áreas de currais, que compreendem a região de fundo da Baía de Guanabara, foram analisadas individualmente no Laboratório de Físico-toxicoquímica de Sistemas Naturais da Universidade de Bordeaux I, França, sob orientação da Dra Hélène Budzinski. A técnica analítica utilizada foi a de CL/EM/EM conforme protocolo estabelecido por Le Menach e colaboradores (2009). Nessas amostras foram identificados e quantificados os 13 metabólitos listados abaixo: 1-hidroxinaftaleno, 2-hidroxinaftaleno, 2-hidroxibifenila, 1-hidroxifenantreno, 2-hidroxifenantreno, 3-hidroxifenantreno, 4-hidroxifenantreno, 9-hidroxifenantreno, 3-hidroxifluoreno, 1-hidroxipireno, 1-hidroxicriseno, 3-hidroxibenzo(a)pireno e 9-hidroxibenzo(a)pireno (Anexo D).

O fluxograma das etapas da análise é mostrado na Figura 11 e consiste em desconjugação enzimática (quebra da estrutura conjugada hidrofílica dos metabólitos e conseqüente formação de metabólitos livres eletrolíticos), extração, purificação para posterior análise por CL/EM/EM. O procedimento detalhado está descrito a seguir.

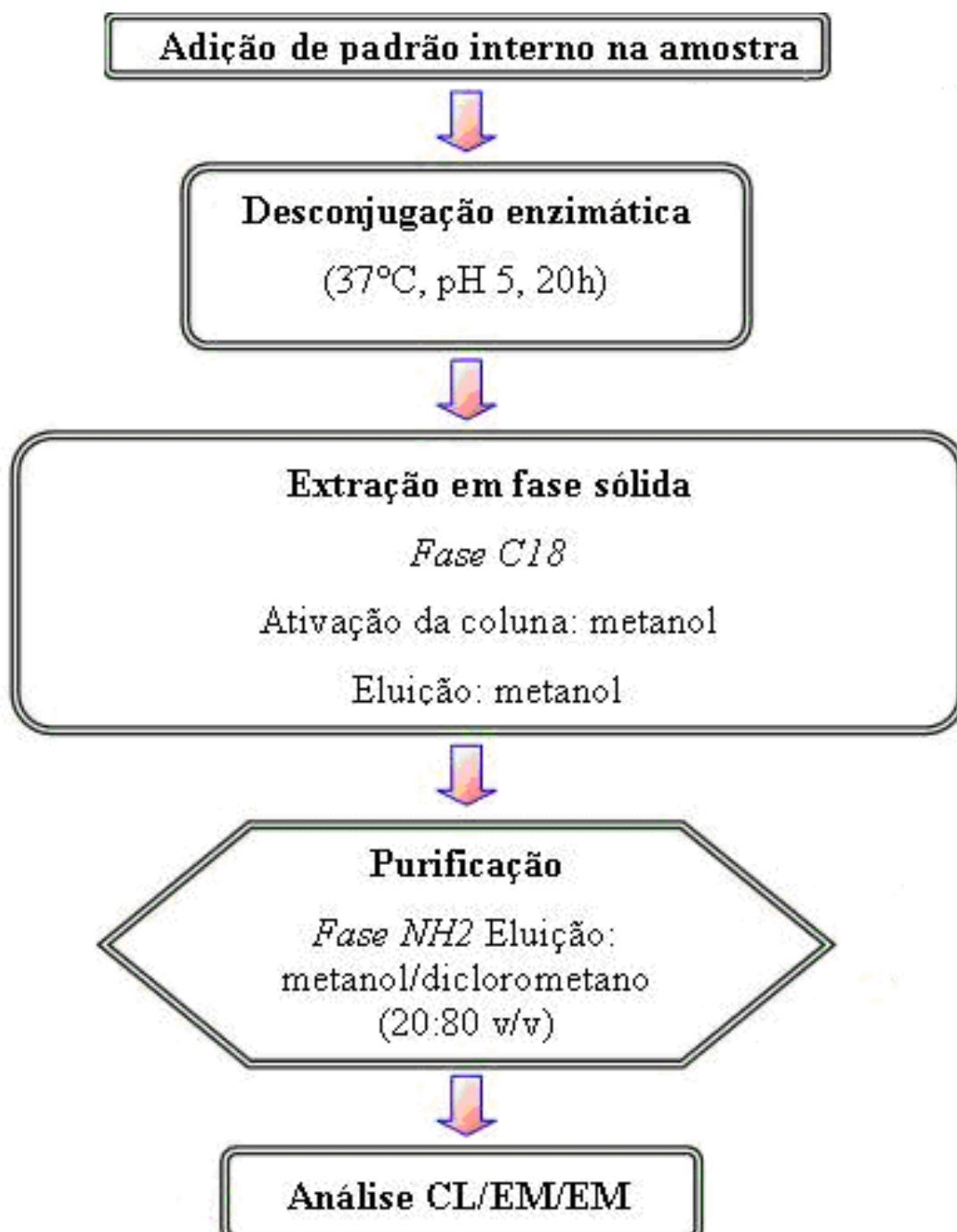


Figura 11. Fluxograma das etapas analíticas envolvidas na determinação de metabólitos de HPAs em bile de peixes através de CL/EM/EM.

6.5.1 Preparação da Amostra

As amostras de bile foram preparadas para a determinação de metabólitos de HPAs para posterior análise utilizando um sistema de cromatografia líquida acoplada a um sistema de espectrometria de massa (CL/EM/EM).

Juntamente com as amostras de bile foram processados brancos de laboratório utilizando como matriz solução tampão de acetato com pH 5, de forma a verificar contaminações e interferências nas análises de bile. Também foram processadas amostras contendo mistura dos padrões com níveis de concentração conhecidos para se calcular o percentual de recuperação para cada um dos compostos analisados.

As etapas de preparação das amostras são as seguintes:

- **Deconjugação enzimática:** Devido à presença de metabólitos formados durante a segunda fase do metabolismo, como glucoronídeos ou sulfato conjugados, é necessária a realização de uma desconjugação enzimática para a obtenção desses metabólitos na forma livre OH – HPA. Alíquotas de 100 µL das amostras foram tratadas com 20 uL de enzima β -glucuronidase (utilizando 2mL de tampão acetato para manter o pH 5, que é o pH ótimo para atuação da enzima. Foram adicionados 20 uL de antioxidante (2 mercaptoetanol) e 20 uL de padrão interno (1-Hidroxipireno d9) para quantificação dos metabólitos. Em seguida as amostras foram incubadas à 37°C durante o período de 20 horas.
- **Extração em fase sólida (solid phase extraction - SPE):** Os compostos hidrofílicos indesejáveis foram inicialmente separados dos metabólitos e pigmentos utilizando-se extração em fase sólida (cartuchos com fase C18 de 500 mg). Esses compostos foram eluídos com 2 mL de solução tampão de acetato com pH 5 enquanto os metabólitos e pigmentos ficaram retidos na fase sólida, sendo em seguida extraídos da coluna com metanol (2 x 2,5 mL). Posteriormente a fração contendo os metabólitos foi levada à secura em fluxo de argônio e dissolvida em 1 mL de solução de diclorometano/metanol (8:2).
- **Purificação:** A purificação dos metabólitos foi realizada utilizando-se extração em fase sólida (cartuchos com fase NH₂ de 500 mg). Os metabólitos foram eluídos com

uma solução de diclorometano/metanol (8:2) (2 x 2,5 mL), ficando os pigmentos retidos na fase NH_2 . O extrato foi levado à secar sob fluxo de argônio e posteriormente dissolvido em 150 μL de metanol para injeção no CL/EM/EM.

6.5.2. Análise de metabólitos de HPAs

As análises foram conduzidas em um cromatógrafo líquido Waters Acquity SDS acoplado a sistema EM/EM Acquity. O espectrômetro de massa foi operado no modo negativo e os dados foram adquiridos em modo SIM (*single ion monitoring*). O gás de colisão utilizado foi o argônio com fluxo de 0,22 mL/min. A quantificação foi feita através de padronização interna, utilizando-se uma solução de 1-hidroxipireno deuterado (1-hidroxipireno- d_9). As especificações do equipamento e as condições cromatográficas são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3. Condições Instrumentais para a Determinação de Metabólitos de HPAs em Bile de Peixe por CL/EM/EM.

Equipamento	Waters Acquity SDS Chromatograph Waters Quattro Premier/Acquity MS/MS Waters Acquity Autosampler			
Coluna	UPLC BEH C18 column (100 x 2.1 mm, 1.7 μm particle size)			
Gradiente	Tempo	Fluxo	% Água	% Acetonitrila
	0,0	0,6	70	30
	4,0	0,6	30	70
	4,5	0,6	0	100
	6,0	0,6	0	100
	6,5	0,6	70	30
	8,0	0,6	70	30
Solventes	Água e Acetonitrila			
Volume de Injeção	2 μL			

A Figura 12 ilustra um cromatograma contendo uma mistura de padrões metabólitos de HPAs injetado no CL/EM/EM nas condições anteriormente especificadas.

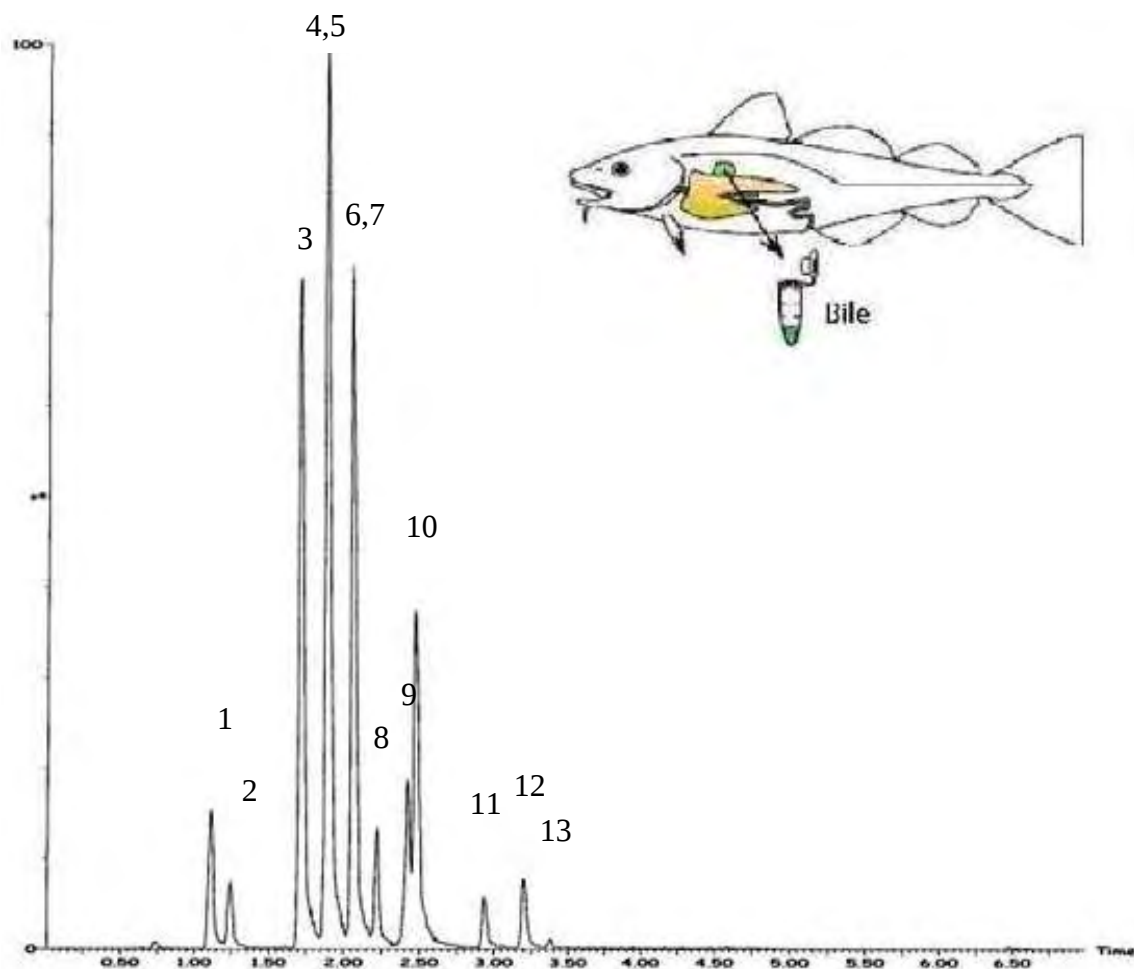


Figura 12. Cromatograma de metabólitos obtido por CL/EM/EM adaptado de Ariese *et al.*, 2005).

Legenda: 1: 1-OH-Naftaleno, 2: 2-OH-Naftaleno, 3: 2-OH- Bifenila, 4: 1-OH-Fenantreno, 5: 2-OH-Fenantreno, 6: 3-OH-Fenantreno, 7: 4-OH-Fenantreno, 8:9-OH-Fenantreno, 9: 9-OH-fluoranteno, 10- 1-OH-Pireno, 11: 1-OH-Criseno, 12: 3-OH- Benzo(a)pireno, 13: 9-OH- Benzo(a)pireno.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. Análise Biométrica

Os valores médios de biometria encontrados para os indivíduos coletados nas seis grandes áreas da Baía de Guanabara encontram-se de forma resumida na tabela 4. Os dados detalhados para cada indivíduo coletado encontram-se no anexo A.

Tabela 4. Dados de Biometria dos espécimes coletados na Baía de Guanabara.

Área da Baía	Nº de Indivíduos	Comprimento Total Médio (cm)	Desvio padrão	Peso médio (g)	Desvio padrão	Data da Coleta
Canal	12	53,22	2,25	1144,92	178,01	10/09/2008
Gradim	12	49,57	2,39	934,44	133,58	17/09/2008
Ilha do Governador	12	49,49	4,27	1011,82	230,53	03/09/2008
Curral Limão	7	37,77	1,18	415,09	46,91	05/08/2008
Curral Olaria	11	43,82	6,25	699,87	376,26	17/08/2008
Curral APA	12	47,71	2,68	810,65	146,17	12/08/2008

7.2 HPAs em tecido muscular de peixe

A concentração e a distribuição dos HPAs individuais analisados nas amostras de tecido muscular de *Mugil liza* provenientes das cinco áreas anteriormente citadas da Baía de Guanabara, encontram-se nos Anexos E a K. A Tabela 5 mostra os resultados do somatório dos 16 HPAs prioritários segundo EPA (Σ 16 HPAs) e a soma total dos 38 HPAs determinados (Σ 38 HPAs) para as regiões de entrada e meio da Baía (canal, Gradim e Ilha). A tabela 6 mostra as concentrações de HPAs para a região de fundo (Curral Olaria, Curral APA e Curral Limão).

O total dos 16 HPAs variou ao longo da Baía apresentando teores entre 92,17 e 158,81 ng/g (peso seco). Dentre as áreas estudadas, a região denominada Curral APA apresentou a menor média de 104,82 ng/g com desvio padrão de 8,47 ng/g e a região do Curral Limão apresentou a maior média de concentração de 180,95 ng/g com desvio padrão de 55,75 ng/g (tabela 5). Analisando-se o valor encontrado para o somatório dos 38 HPAs, a variação de concentração ao longo da Baía foi de 191,09 a 428,31 ng/g (peso seco). De forma semelhante ao somatório dos 16 HPAs, o menor valor médio de concentração para o somatório dos 38 HPAs encontrado entre as regiões foi para o curral APA foi de 215,00 ng/g com desvio padrão de 23,74 ng/g e o maior valor médio encontrado foi para o Curral Limão 436,04 ng/g com desvio padrão de 55,75 ng/g (Tabela 6).

Como análise estatística dos dados, foi realizado inicialmente teste de Grubbs por área e logo em seguida foi realizado o mesmo teste para todo o grupo de dados, não sendo encontrada nenhuma diferença entre ambos. Este teste tem como objetivo a verificação da presença de valores extremos (*outliers*) na população de indivíduos analisada. Desta forma foi constatada a presença de dois *outliers* (CL1 e o CL3, ambos no curral Limão) que foram desconsiderados nos cálculos posteriores, 238,67 ng/g e 281,16 ng/g respectivamente. Em seguida, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para que se pudesse avaliar a normalidade dos dados. Concluiu-se desta forma que os valores encontrados para o somatório dos 16 HPAs em tecido de *Mugil liza* da Baía de Guanabara, são provenientes de uma mesma população de distribuição normal (Anexo L).

A mesma análise estatística foi realizada para o grupo de dados do somatório dos 38 HPAs, onde foram identificados dois *outliers* (CL1 = 522,10 ng/g e o CL3 = 678,21 ng/g, ambos no curral Limão e os mesmos encontrados para o grupo de dados analisados anteriormente) que foram desconsiderados nos cálculos posteriores. A análise de normalidade

revelou que esse grupo de dados também são provenientes de uma mesma população com distribuição normal.

Tabela 5. Resultados de HPAs (ng/g peso úmido e peso seco) de amostras de tecido muscular de *Mugil liza* nas regiões de entrada e meio da Baía de Guanabara.

Estação	Amostra	Peso úmido (ng/g)		Peso seco (ng/g)	
		Σ 16 HPAs	Σ 40 HPAs	Σ 16 HPAs	Σ 40 HPAs
Canal	CN1	17,42	33,21	133,98	264,96
	CN2	18,05	35,8	138,83	286,61
	CN3	16,91	40,3	130,07	321,24
	CN4	15,99	34,83	122,98	278,53
	CN5	14,61	26,53	112,35	212,93
	CN6	17,39	35,14	133,80	281,68
	CN8	16,41	32,82	126,24	265,31
	media	16,68	34,09	128,32	273,04
	Desvio Padrão	1,14	4,14	8,79	32,53
Gradim	GR1	20,38	55,29	156,75	427,70
	GR2	18,07	34,29	145,99	272,50
	GR3	20,35	42,75	156,51	331,94
	GR4	19,26	38,77	148,19	305,12
	GR6	18,72	38,22	144,02	306,68
	GR7	18,89	36,78	145,27	293,91
	GR8	18,06	33,25	138,94	267,79
	media	19,1	39,91	147,95	315,09
	Desvio Padrão	0,96	7,47	6,56	54,21
Ilha	I1	15,31	31,52	124,81	260,46
	I2	16,13	32,02	124,05	258,68
	I3	13,95	28,74	114,75	228,59
	I4	14,96	28,58	115,05	237,42
	I7	13,56	27,15	111,32	227,20
	I8	14,8	29,34	113,86	240,47
	I9	13,53	22,93	111,63	199,26
	media	14,61	28,61	116,50	236,01
	Desvio Padrão	0,97	3,03	5,61	20,88

Tabela 6. Resultados de HPAs (ng/g peso úmido e peso seco) de amostras de tecido muscular de *Mugil liza* na região de fundo da Baía de Guanabara.

Estação	Amostra	Peso úmido (ng/g)		Peso seco (ng/g)	
		Σ 16 HPAs	Σ 40 HPAs	Σ 16 HPAs	Σ 40 HPAs
Curral Olaria	CO7	12,84	28,51	104,65	234,77
	CO8	12,8	26,18	104,62	217,96
	CO9	17,19	36,11	132,21	284,08
	CO10	14,27	33,32	116,53	265,98
	CO11	14,89	32,8	114,56	257,93
	CO12	15,1	32,28	123,36	261,83
	CO13	14,13	32,93	122,50	273,48
	media	14,46	31,73	116,92	256,58
	Desvio Padrão	1,5	3,31	10,12	22,83
Curral APA	CP02	11,82	23,3	102,78	191,09
	CP03	15,06	31,69	115,84	252,84
	CP04	14,37	28,07	110,54	226,77
	CP06	13,21	26,88	108,16	222,65
	CP09	11,24	23,31	92,17	192,79
	CP10	11,99	24,23	99,43	203,83
	media	12,95	26,25	91,29	187,54
	Desvio Padrão	1,53	3,31	36,62	75,80
Curral Limão	CL1	31,02	87,68	238,67	678,21
	CL2	19,72	52,97	158,81	423,18
	CL3	36,55	66,23	281,16	522,10
	CL4	19,17	53,63	154,43	428,31
	CL5	18,32	38,23	148,04	315,51
	CL6	16,8	42,93	136,40	345,87
	CL7	18,41	41,97	149,15	339,08
	media	22,86	54,81	180,95	436,04
	Desvio Padrão	7,69	17,3	55,75	128,02

Assim sendo podemos inferir que a distribuição da população de estudo possui uma média populacional de 126,76 ng/g e desvio-padrão populacional de 17,91 ng/g para o Σ 16 HPAs e uma média populacional de 274,54 ng/g e desvio-padrão de 59,53 ng/g para o Σ 38 HPAs. Esses dados podem ser então utilizados como valores característicos para a região para cada grupo de dados.

Dentre todas as áreas, o Curral APA apresentou o menor valor médio de concentração para o Σ 16 HPAs e desta forma, a mesma foi utilizada como base para comparação com as demais áreas da baía. Contudo, baseado em análises estatísticas paramétricas (teste F e teste T), verificou-se que não existe diferença significativa em concentração de HPAs em tecido

muscular entre as áreas do Curral Olaria e Curral APA. O mesmo não ocorre quando se compara a área do curral APA com as demais áreas, que apresentam diferenças significativas entre os valores de concentração médios encontrados. Na Figura 13 pode ser observada a variação de concentração do somatório dos 16 HPAs ao longo das áreas estudadas na Baía de Guanabara.

As mesmas análises estatísticas (teste F e teste T) foram realizadas para as concentrações dos 38 HPAs em tecido muscular. Conforme observado para as concentrações do somatório dos 16 HPAs, pode-se inferir que não existe diferença significativa em concentração entre as áreas do Curral Olaria e Curral APA. Além disso, quando se compara a área do curral APA com as demais áreas, verifica-se que as mesmas apresentam diferenças significativas entre os valores de concentração médios encontrados.

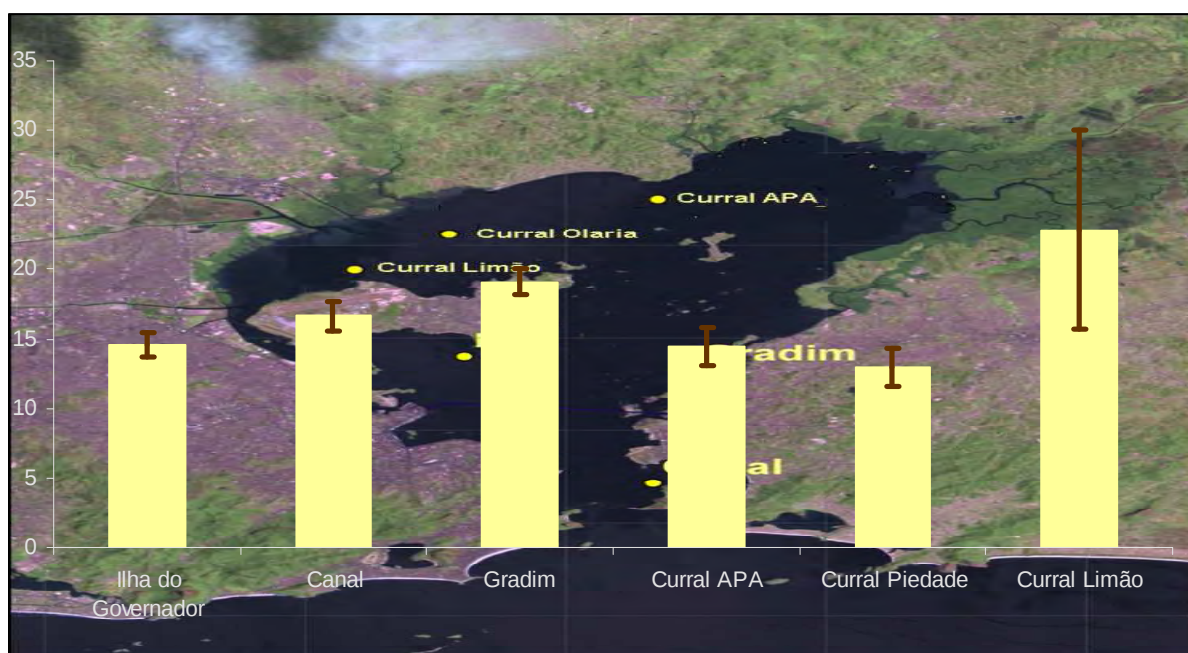


Figura 13. Distribuição Espacial dos Σ 16 HPAs em tecido muscular de peixe *Mugil liza* da Baía de Guanabara.

Não existe no Brasil uma legislação que estabeleça os níveis aceitáveis de HPAs em organismos marinhos. Desta forma, os dados obtidos neste estudo foram comparados com critérios internacionais estabelecidos para liberação de pesca após derrame acidental de óleo em ambientes marinhos. Foram utilizados os critérios implementados pelas instituições internacionais MDEP (Marine Department of Environmental Protection), NOAA (National

Oceanic and Atmospheric Administration), e RIDOH (Rhode Island Department of Health), que são mostrados nas Tabelas 7, 8 e 9.

Tabela 7. Critérios Estabelecidos pelo MDEP – Marine Department of Environment Protection.

Composto	Nível Máximo permitido (peso seco - ng/g)	Média de concentração encontrada neste estudo em <i>Mugil liza</i> da Baía de Guanabara (peso seco - ng/g)
Não carcinogênico		
Naftaleno	2000000	14,47
Fluoreno	90000	59,37
Antraceno	1500000	17,12
Fluoranteno	200000	23,04
Pireno	150000	23,29
Carcinogênico		
Soma de todos os compostos*	<50	ND

*Benzo(a)antraceno, Benzo(a)pireno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, criseno, Dibenzo(a,h)antraceno, Indeno(1,2,3-cd)pireno.

Tabela 8. Critérios Estabelecidos pela NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration.

Classificação	Nível HPAs Totais (ng/g)	Média de concentração encontrada neste estudo em <i>Mugil liza</i> da Baía de Guanabara (ng/g)
Livres de contaminação	<10	-
Minimamente contaminadas	10 a 99	16,00
Moderadamente contaminadas	100 a 1000	-
Altamente contaminadas	>1000	-

Tabela 9. Critérios Estabelecidos pela RIDOH - Rhode Island Department of Health.

Composto	Nível Máximo permitido (peso seco - ng/g)	Média de concentração encontrada neste estudo em <i>Mugil liza</i> da Baía de Guanabara (peso seco - ng/g)
Naftaleno	90000	14,47
Fluoreno	90000	59,37
Antraceno/Fenantreno	700000	17,12
Fuoranteno	800	23,04
Pireno	100	23,29
Benzo(a)antraceno	1000	6,88
Criseno	1000	6,78
Benzo(a)pireno	20	ND

Analisando-se os dados de tecido de HPAs obtidos para as seis áreas estudadas na Baía de Guanabara e comparando-se esses valores com os critérios internacionais para liberação da pesca após derrames de óleo, pode-se inferir que 99% da população de *Mugil liza* se encontra no patamar de áreas minimamente contaminadas de acordo com a classificação da NOAA (Tabela 8), e apresenta teores de HPAs dentro dos demais critérios estabelecidos (Tabelas 7 e 9). Desta forma pode-se considerar que os peixes da Baía de Guanabara, não oferecem risco à saúde humana, apesar do estado crônico de poluição da região por estes compostos.

Para todas as áreas estudadas pode-se observar a presença de alquilados de baixo peso molecular, são eles alquilados de naftaleno, fluorenos, fenantreno-antracenos e pireno-fluorantenos (anexos de F a K), que são indicadores de HPAs provenientes de fonte petrogênica, conforme observado em moluscos bivalves por Francioni *et al* (2007). Contudo, ao contrário do observado para os moluscos bivalves estudados pela autora e colaboradores, neste estudo não foram observados níveis traços de dizenzotiofenos e respectivos alquilados, também indicadores de HPAs provenientes de fonte petrogênica.

Como podem ser observadas na Tabela 10, as faixas de concentração de HPAs nos tecidos musculares dos peixes analisados neste estudo mostram-se em nível de concentração superior aos encontrados nos trabalhos reportados para peixes na referida tabela.

Tabela 10. Concentração de HPAs (peso seco - ng/g) determinados por CG/EM em outras localidades do mundo.

Espécie	Local	Concentração		Referencia
		Σ 16 HPAs ng/g	HPAs totais ng/g	
<i>Platycephalus bassensis</i>	Port Phillip Bay, Victoria	55,7	-	Nicholson et al.,1994
<i>Salvelinus namaycush</i>	American Great Lakes	1,5-6,3	-	Zabik et al., 1995
<i>Solea solea</i> ,.	RED SEA, YEMEN COAST	50,7	421,5	DouAbul et al., 1997
<i>Thunnus thynnus</i>	Peixe comercializado em mercado público da Coreia.	38,5	-	Moon, et al., 2010.
<i>Mugil liza</i>	Baía de Guanabara – Amostras Pós derrame	3 – 30,2	63 – 313	Meniconi et al.,2001
<i>Mugil liza</i>	Baía de Guanabara	92 - 159	191 - 428	Presente trabalho

7.3 Metabólitos de HPAs em bile de peixe

Após execução do protocolo completo de Le Menach e colaboradores (2009), que consiste nas etapas de desconjugação, extração, purificação e análise por CL/EM/EM, foram identificados e quantificados 13 compostos em bile de peixe da espécie *Mugil liza* coletados na região de fundo da Baía de Guanabara que compreende as três áreas de curral denominadas Curral Limão, Curral Olaria e Curral APA.

As concentrações individuais de 13 metabólitos de HPA encontram-se no Anexo M. O somatório dos 13 metabólitos de HPAs determinado na região de fundo da Baía apresentou teores entre 261,44 a 2796,24 ng/g de bile (Tabela 11). Avaliando-se os valores das médias de concentração para cada área, o Curral Olaria apresentou a menor média (786,36 ng/g de bile), seguida pelo curral APA (878,80 ng/g de bile) e pela região do Curral Limão que apresentou a maior média de concentração (1768,94 ng/g de bile). Pode-se observar na Figura 14 a distribuição do Σ 13 OH-HPA ao longo do fundo da Baía de Guanabara.

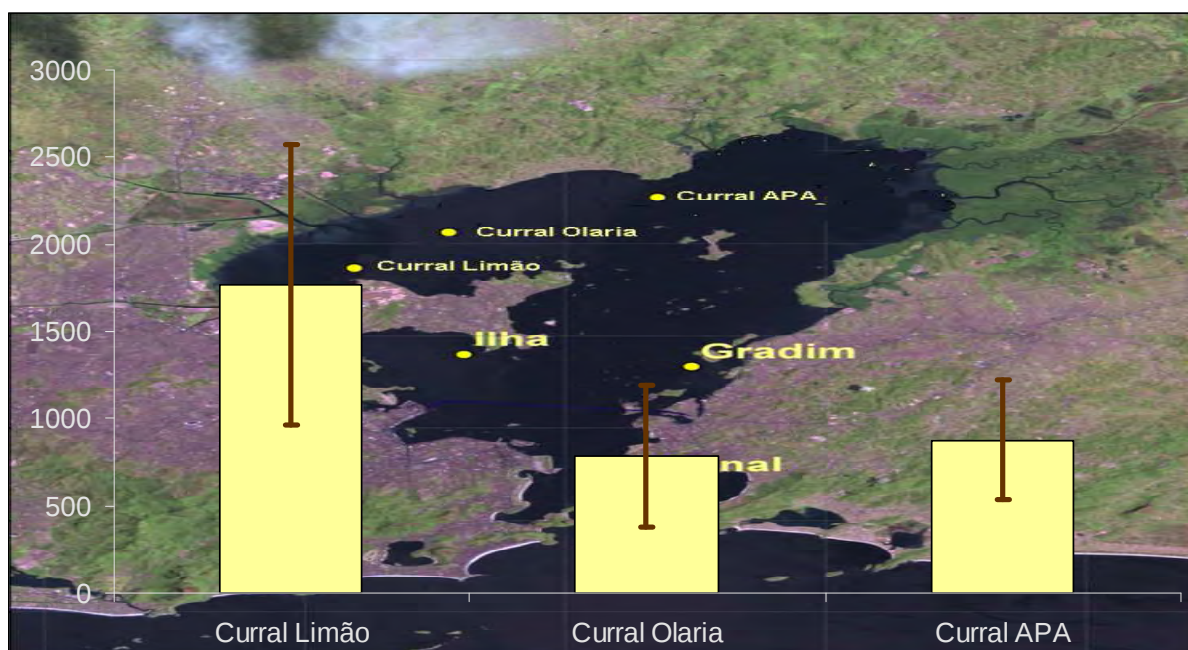


Figura 14. Distribuição Espacial dos Σ 13 OH-HPA nas regiões de Curral da Baía de Guanabara.

Tabela 11. Resultados do somatório dos 13 Metabólitos de HPAs (ng/g de bile) de amostras de Bile de *Mugil liza* das regiões de currais da BG.

Curral	Amostra	Σ 13 OH-HPA
Curral Limão	BR2	1102,44
	BR3	1383,32
	BR4	1923,87
	BR5	820,29
	BR6	2587,45
	BR7	2796,24
	Média	1768,94
	Desvio Padrão	805,25
Curral Olaria	BR14	261,44
	BR15	692,23
	BR16	276,11
	BR18	713,03
	BR26	713,03
	BR28	1188,60
	BR29	702,32
	BR30	689,51
	BR31	1604,83
	BR32	575,26
	BR33	1233,58
	Média	786,36
	Desvio Padrão	405,98
Curral APA	BR49	452,83
	BR50	819,04
	BR51	887,09
	BR52	561,08
	BR53	916,98
	BR55	930,16
	BR57	948,68
	BR58	1555,30
	BR59	1255,47
	BR60	461,40
	Média	878,80
	Desvio Padrão	344,60

A mesma análise estatística realizada nos dados de tecido foi aplicada aos dados de metabólitos de HPAs em bile, que foram o teste de Grubbs por área e logo em seguida foi realizado o mesmo teste para todo o grupo de dados, não sendo também encontrada nenhuma diferença entre ambos. Foi constatada a presença de dois *outliers* (BR1 proveniente do curral Limão e BR54 proveniente do curral APA) da mesma maneira, estes foram desconsiderados nos cálculos posteriores, os valores de concentração para esses indivíduos foi de 1.703.614,79 ng/g e 117.134,27 ng/g respectivamente. Em seguida, foi realizado o teste de kolmogorov-Smirnov, através do qual pode-se concluir que os valores encontrados para o somatório dos 13 metabólitos de HPAs em tecido de *Mugil liza* da Baía de Guanabara são provenientes de uma mesma população de distribuição normal.

Assim sendo, inferiu-se que a distribuição da população de estudo possui uma média populacional de 1.038,95 ng/g e desvio-padrão populacional de 623,72 ng/g. Esses dados podem ser então utilizados como valores característicos para a região.

Comparando-se os valores de concentração média dos metabólitos individuais para toda a região de fundo da Baía (Figura 15), destacam-se o 1-OH-Pireno e o 2-OH-Bifenila com os maiores valores de concentração, respectivamente 466,27 e 335,24 ng/g.

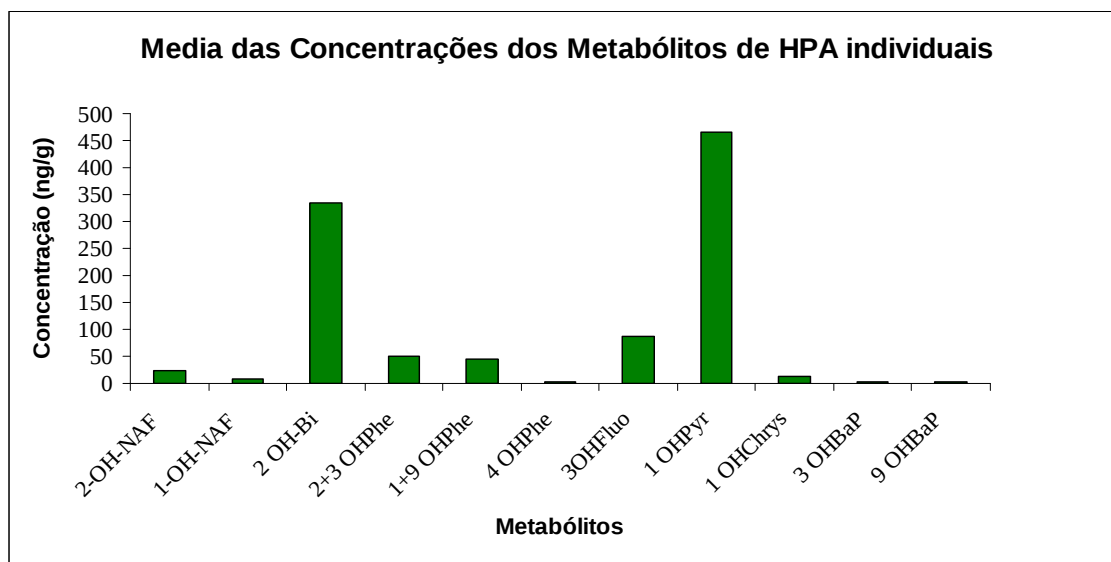


Figura 15. Média das Concentrações dos metabólitos de HPAs individuais na área de currais da Baía de Guanabara.

Pode-se ainda analisar a distribuição dos metabólitos de HPAs individuais por cada área de Curral (Figura 16). Observam-se os maiores valores de concentração para 1-OH-Pireno na área do Curral Limão, seguido pelo Curral APA cujos valores são 1006,71 e 391,55

ng/g respectivamente. Já para o metabólito 2-OH-Bifenila, os maiores valores são encontrados para os Currais APA e Olaria (367,41 e 358,54 ng/g), dentre os quais estatisticamente não se verifica diferença significativa.

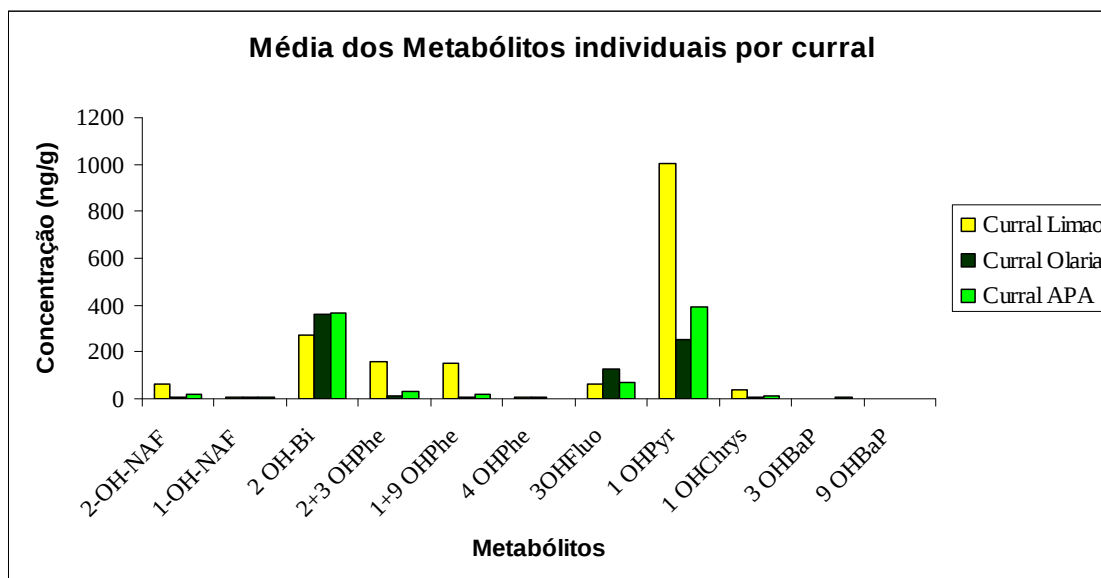


Figura 16. Média das Concentrações dos metabólitos de HPAs individuais por Área de Currais.

Como pode ser observado na Tabela 12, os teores de metabólitos encontrados para os peixes analisados neste estudo mostram-se em nível de concentração semelhantes aos encontrados nos trabalhos realizados na Europa, porém inferiores aos valores reportados pelos trabalhos realizados nos EUA e Alasca. Observa-se também que os níveis encontrados para esse trabalho são inferiores aos encontrados por Meniconi (2007), referentes à mesma área de estudo. Deve-se, no entanto considerar as limitações nas comparações desses valores, já que pode existir grande variabilidade dos fatores que influenciam a concentração de metabólitos em organismos aquáticos como espécie, habitat e hábito alimentar, além da diferente metodologia analítica e diferente petrechos para captura utilizados. Meniconi e colaboradores (2007) trabalharam com espécies diferentes capturadas por arrastos de fundo (garantindo uma maior interação com o sedimento) e neste trabalho a captura foi realizada através de redes de espera na coluna d'água.

Foram realizados os Testes de Pearson (paramétrico) e Spearman (Não Paramétrico) Para a verificação a existência de correlação entre os dados de concentração de metabólitos de HPAs determinados na bile e as concentrações de HPAs determinadas no tecido muscular, comprovando-se que não existe correlação entre esses dois grupos de dados (Anexo L).

Tabela 12. Concentração de Metabólitos em Bile de peixes (ng/g de bile) em regiões distintas.

Espécie de Peixe	Local	Concentração Total de Metabólitos (ng g ⁻¹)	Concentração de Hidroxipireno (ng g ⁻¹)	Referência
Análise por CG-EM				
<i>Parophrys Vetulus</i>	Puget Sound, Washington, EUA	7200 a 1028000	2000 a 300000	Krahn et al., 1987
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	Prince Wiiliam Sound, Alasca	416 e 137870	-	Mazeas, 2004
<i>Lethrinus kallopterus</i>	Golfo Pérsico	660 a 18990	-	Krahn et al., 1993b
<i>Mullus Barbatulus</i>	Porto de Barcelona, Espanha	-	1240	Escartin and Porte, 1999
<i>Cyprinus Carpio</i>	Rio de Barcelona, Espanha	1000 a 6000	400 a 5500	Fernandes, 2002
<i>Platichthys Flesus</i>	Estuário da Baía do rio Sena, França	28 a 3432	2782	Mazeas, 2004
<i>Platichthys Flesus</i>	Norte da Baía do rio Sena, França	8 a 545	299	
<i>Solea solea</i>	Baía de Biscaia, França após acidente <i>NT Erika</i>	133 a 4039	133 a 1425	Mazeas, 2004; Budzinski et al., 2004
<i>Limanda Limanda</i>	Estuário da Baía do rio Sena, França	30 a 400	20 a 250	Le Dû et al, 2006
<i>Mugil incilis</i>	Baía de Cartagena, Colômbia	893,14	733	Restrepo et Al.,2008
<i>Cyclichthys Spinosus</i>	Baía de Guanabara, Brasil	15230 a 48780	7383 a 27158	Meniconi, 2007
<i>Micropogonias Furnieri</i>	Baía de Guanabara, Brasil	12600 a 73722	9235 a 10100	
<i>Genidens Genidens</i>	Baía de Guanabara, Brasil	12853 a 176925	2754 a 14336	
Análise por CLAP-F				
<i>C. labrous</i>	Estuário de Urbaidai, Espanha	283 a 4079	-	Puy-Azurmedi et al.,2010.
<i>Mullus barbatus</i>	NW Mediterranean Coast	91 a 1589	-	Escartin e Porte, 1999
<i>Cyclichthys spinosus</i>	Canal de São Sebastião, Brasil	93000 a 250000	60 a 1100	Silva et al.,2006
<i>Prionotus nudigula</i>		26000 a 500000	150 a 290	
Análise por CL/EM/EM				
<i>Mugil liza</i>	Baía de Guanabara, Brasil	261 a 2796	0,45 a 2137	(Presente estudo)

7.4 Avaliação de dados de sedimento da Baía de Guanabara

As amostras de sedimento utilizadas neste trabalho foram coletadas no mês de agosto de 2006 durante um projeto de pesquisa integrado pela PETROBRAS para o monitoramento ambiental da Baía de Guanabara, que contou com a participação de 11 instituições e universidades (PETROBRAS, 2010). Os valores de concentração de HPAs em sedimentos da baía se apresentam em uma faixa ampla, variando entre 8 e 78.523 ng/g. Foram avaliados os resultados das estações de sedimento próximas às áreas de coleta de peixes, para que se pudesse tentar estabelecer uma relação entre as concentrações representativas de HPAs nos sedimentos da baía obtidos no processo com as amostras de peixe analisadas neste estudo. As tabelas com os valores de concentração individual de HPAs nas estações selecionadas encontram-se no anexo N. A Figura 17 ilustra estas estações de coleta de sedimento.

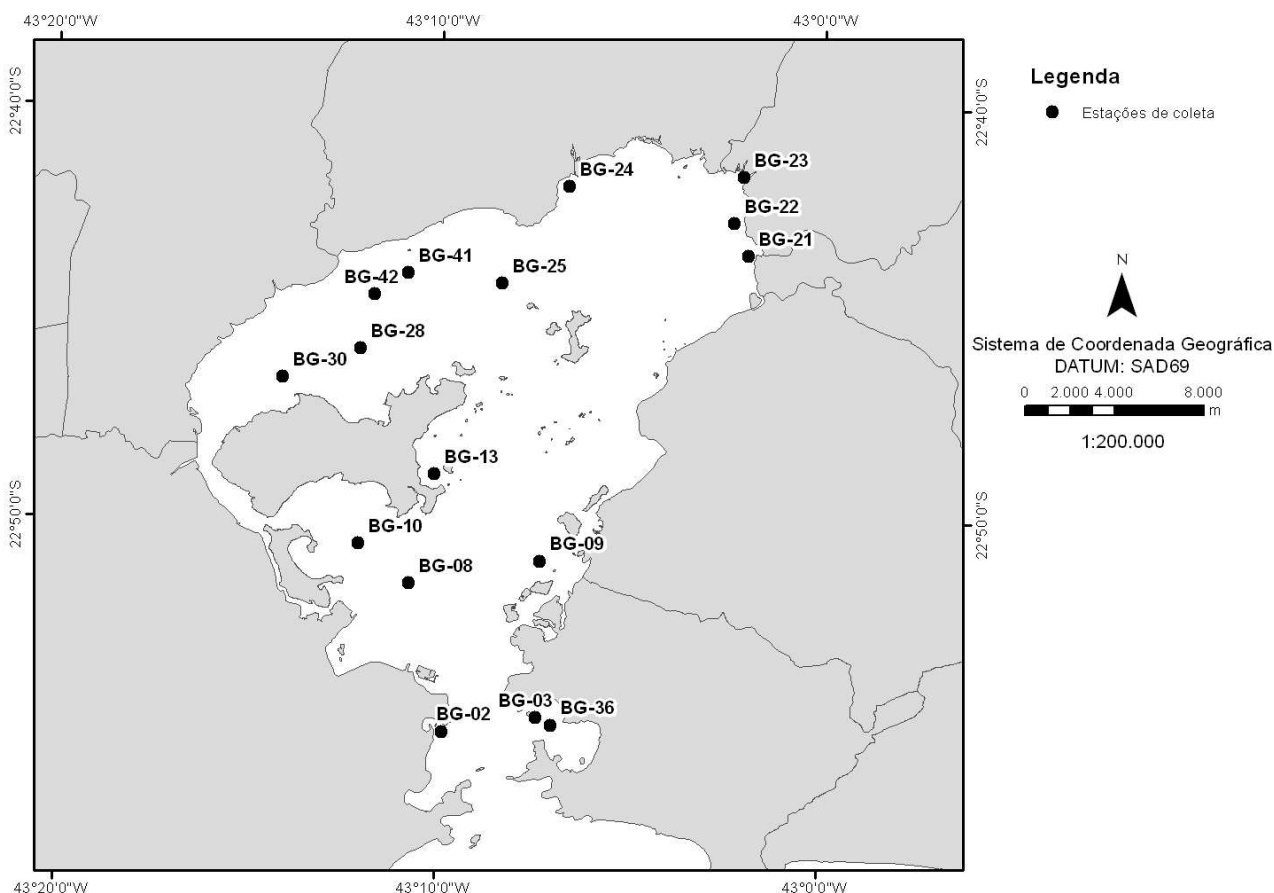


Figura 17. Estações de Coleta de Sedimento da Baía de Guanabara.

A figura 18 mostra as concentrações de HPAs em sedimentos nas estações de coleta selecionadas, cujos níveis de contaminação encontram-se classificados de acordo com os valores orientadores da noaa de concentração de HPAs em sedimentos nos EUA (Anexo O).

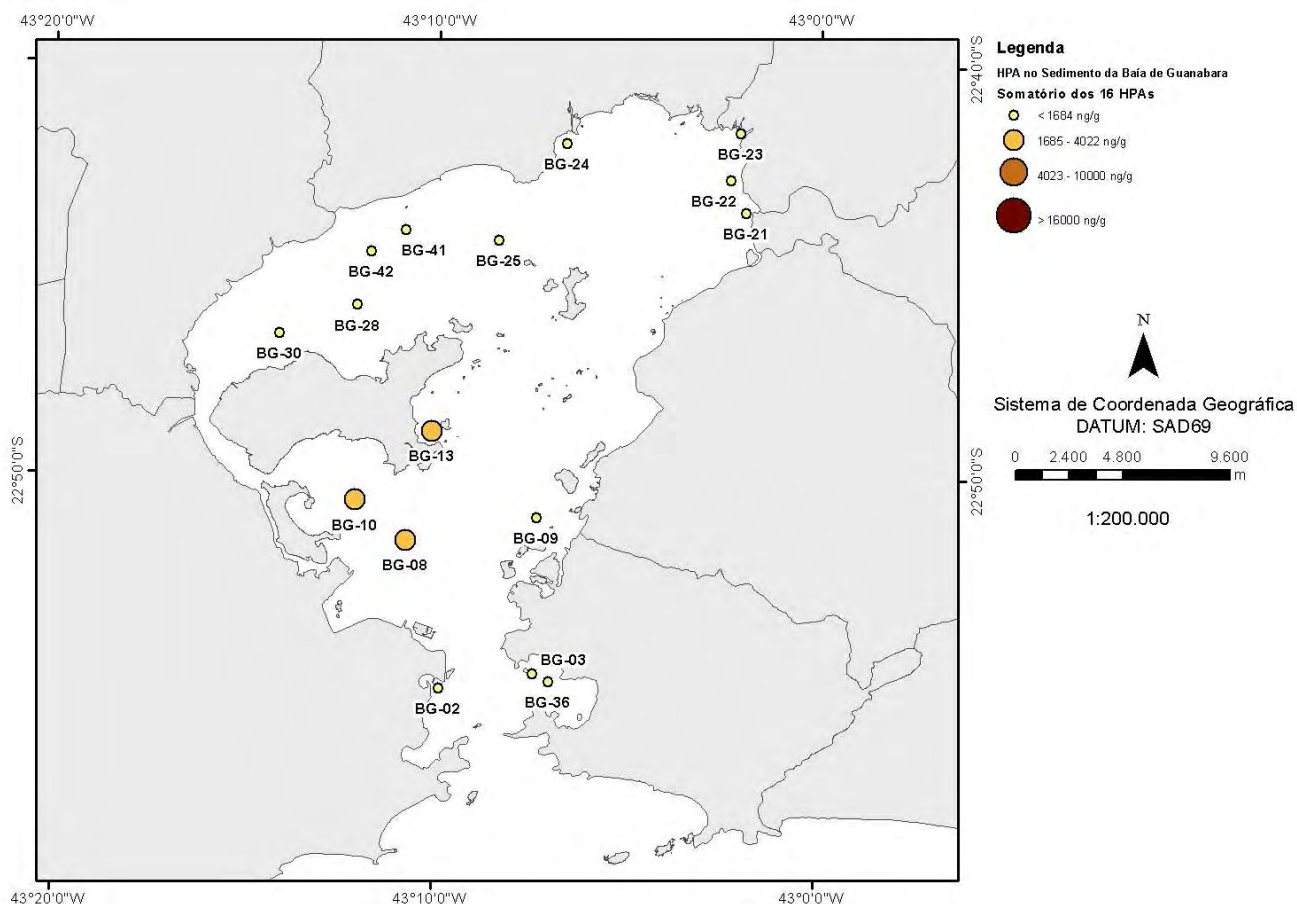


Figura 18. Concentração do somatório dos 16 HPAs em Sedimento da Baía de Guanabara.

Para praticamente todas as estações amostradas os valores de concentração se encontram abaixo do nível limite de efeito (TEL), que é 1684,06 ng/g, onde os efeitos adversos à biota aquática são raramente esperados. Apenas as estações 8, 10 e 13 situadas na região de meio da Baía, ultrapassaram essa faixa e apresentam concentrações abaixo de 4022 ng/g, limite da faixa ELR (faixa de efeitos baixos, na qual a toxicidade pode ser observada em espécies sensíveis).

Não foi verificado nenhum indício de correlação entre os teores de metabólitos na bile de peixe e as concentrações de HPAs em sedimento com valores típicos para a região,

utilizando para esta avaliação os valores de concentração média dos compostos analisados para cada área, como pode ser observado nas Figuras 19 e 20.

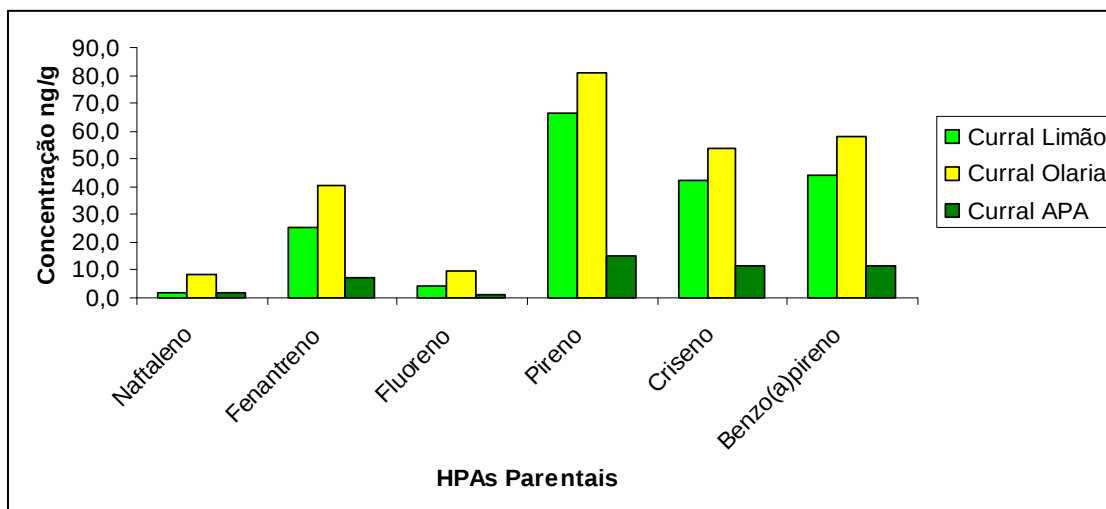


Figura 19. Distribuição de 6 HPAs individuais em sedimentos da região de currais da Baía de Guanabara.

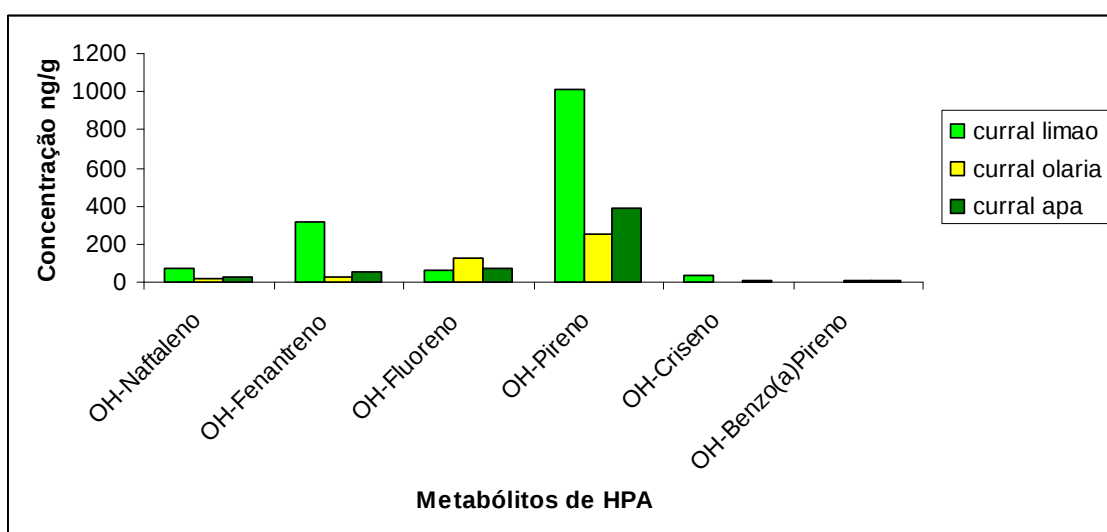


Figura 20. Distribuição de 6 metabólitos de HPAs na bile de peixes da espécie *Mugil liza* da região de currais da Baía de Guanabara.

Comparando-se as distribuições desses compostos ao longo das regiões de currais da Baía, pode-se observar que o pireno é o HPAs parental mais abundante nos sedimentos. Na bile o metabólito com maior concentração é o 1-hidroxi-pireno, o metabólito correspondente ao pireno (Anexo E). Foi ainda observada a presença deste composto no tecido muscular.

Em relação aos compostos de baixo peso molecular (2-3 anéis), observa-se também a presença dos mesmos no sedimento, no tecido muscular e na bile.

Quanto ao BaP e criseno, embora detectados no sedimento, apresentaram baixos níveis na bile e não foram encontrados no tecido muscular.

8 CONCLUSÕES

O presente trabalho de determinação de HPAs e seus metabólitos em peixes da espécie *Mugil liza* provenientes da Baía de Guanabara, permitiu concluir que:

- Os níveis de HPAs quantificados em tecido de *Mugil liza* ao longo da Baía de Guanabara são típicos de ambiente com influência antropogênica, apresentando faixas de concentração entre 92 e 159 ng/g (peso seco) para o somatório dos 16 HPAS e de 191 a 428 ng/g (peso seco) para o somatório dos 38 HPAs. Através da comparação desses valores com níveis de referência internacionais, pode-se inferir que em relação à concentração de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, esses peixes não devem oferecer risco à saúde humana.
- Foram identificados e quantificados 13 metabólitos biliares de HPAs por CL/EM/EM em bile de peixes da espécie *Mugil liza* provenientes de currais, englobando a região de fundo da Baía de Guanabara. As concentrações encontradas se mantiveram na faixa de 261 a 2796 ng/g de bile.
- O somatório das concentrações dos metabólitos de HPAs em bile de peixes da Baía de Guanabara para a espécie estudada mostrou-se dentro da faixa de concentração de outras regiões internacionais com influência antropogênica elevada;
- Os compostos de maior contribuição foram o 1-OH-Pireno e o 2-OH-Bifenila com os maiores valores de concentração, respectivamente 466 e 335 ng/g.
- Não foi encontrada correlação entre a concentração dos metabólitos em bile e dos HPAs parentais determinados no tecido muscular dos peixes estudados da Baía de Guanabara.
- Não foi observado indício de correlação entre os dados de concentração de HPAs em sedimento e a concentração de seus respectivos metabólitos na bile. Diante da análise desses compostos no sedimento, foi possível verificar uma tendência semelhante entre as concentrações de pireno no sedimento e de 1-OH-pireno na bile, uma vez que representam os compostos de maior contribuição para as duas determinações.

- Pode-se observar que a utilização da espécie *Mugil liza* como bioindicador foi efetiva, permitindo uma leitura das condições gerais da região, já que os grupos de concentrações determinados (HPAs no tecido muscular e metabólitos na bile) apresentam uma distribuição normal. Deve-se ressaltar, no entanto, que esta espécie apresenta certas limitações, uma vez que não é uma espécie bentônica, não é residente, dificultando desta forma uma caracterização de áreas específicas, isto é, a correspondência com as condições ambientais de cada área da baía.
- Como nos peixes os HPAs são metabolizados e armazenados na bile para posterior excreção, a sua determinação no tecido muscular não mensura adequadamente o nível de HPAs a que os mesmos estão expostos no ambiente. Desta forma, a determinação dos metabólitos desses compostos na bile representa a maneira mais efetiva de medir esta exposição. A quantificação de HPAs no tecido muscular se faz importante quando se deseja avaliar a adequação do peixe para o consumo humano usualmente após derrames acidentais de óleo.
- A quantificação de metabólitos de HPAs em bile representa uma importante ferramenta de caracterização do nível de concentração de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos a que peixes estão expostos, sendo extremamente recomendável o seu uso em programas de biomonitoramento.

9. RECOMENDAÇÕES

Recomenda-se que sejam realizados outros estudos na Baía de Guanabara englobando áreas que correspondem a todas as condições ambientais da região e com a utilização de outras espécies de peixes. Faz-se necessário a caracterização do sedimento em termos de HPAs, realizando coletas em conjunto de peixes e sedimentos nas regiões a serem amostradas para melhor comparação dos resultados.

Recomenda-se, além disso, realizar experimentos controlados de exposição à HPAs com peixes, em laboratório para melhor compreensão dos mecanismos de biotransformação dos compostos em função da espécie, idade, sexo, hábito alimentar, etc., que podem influir na interpretação dos resultados.

Para estudos futuros, apesar de ser observado nesse trabalho que a técnica de CL/EM/EM é adequada para a determinação de metabólitos de HPAs em bile de peixes pode-se fazer uso de técnicas analíticas diferentes como CG/EM e CLAP-F, de acordo com os equipamentos disponíveis e níveis de especificidade necessários na expressão dos resultados.

REFERÊNCIAS

- AAS, E.; BEYER, J.; GOKSØYR, A. Fixed wavelength fluorescence (FF) of bile as a monitoring tool for polyaromatic hydrocarbon exposure in fish: An evaluation of compound specificity, inner filter effect and signal interpretation. **Biomarkers**, v.5, p.9-23, 2000.
- ALBIERI, R. J. ; ARAUJO, F. G. Reproductive biology of the mullet *Mugil liza* (Teleostei *mugilidae*) in a tropical Brazilian bay. **Zoologia (Curitiba, Impresso)**, v. 27, p. 331-340, 2010
- AMADOR, E. S.; LIMA, S. R. Considerações e propostas dos movimentos ambientalistas Baía Viva e Os Verdes para a fase II do “Programa de Despoluição da Baía de Guanabara”. Rio de Janeiro; [s.n.], 1998.
- ARIESE, F. *et al.* Synchronous fluorescence spectrometry of fish bile: a rapid screening method for the biomonitoring of PAH exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 26, p. 273-286, 1993.
- ARIESE, F.; BEYER, J.; WELLS, D., Two bile certified for PAH metabolites. **J. Environ. Monit.**, v. 7, p. 869-876, 2005.
- ARIESE, F. *et al.* Review of analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic compounds (PACs) in fish bile. In: **ICES Techniques in Marine Environmental Sciences**, 39, 2005. p. 41.
- BAIRD, C. **Environmental Chemistry**. 2. ed. [s.l.]: Freeman, 1999. 557 pp.
- BARROCAS, P. R. G.; WASSERMAN, J. C. *et al.* Geochemistry of mercury in sediments from a tropical estuary: Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. In: International Conference on Heavy Metals in the Environment. Hamburg: CEP Consultants. 1995. p. 178-181.

BAROSA, L. H. C. O uso da espécie *Callinectes sapidus* na avaliação da Contaminação da fração biodisponível de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs). 2005. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.

BINELLI A., PROVINI A. Risk for human health of some POPs due to fish from Lake Iseo. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 58, p. 139–145, 2004.

BUDZINKI, H. *et al.* Link between exposure of fish (*Solea solea*) to PAHs and metabolites: application to the Erika oil spill. **Aquatic Living Resource**, v.17, p.329-334, 2004.

BUHLER, D.R.; WILLIAMS, D.E. Part I.- Enzymes involved in metabolism of PAH by fishes and other aquatic animals: oxidative enzymes (or phase I enzymes). In: VARANASI, U. **Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic environment**. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1989.

Codex Alimentarius Commission (CX/FAC 06/38/36). **Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on food additives and contaminants**. [s.n.], 2005. Discussion paper on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) contamination.

DOMINGO J.L.; BOCIO A; FALCÓ G.; LLOBET J. M. Benefits and risks of fish consumption. Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology* 230:219–226, 2007.

EPA Method 3540C – Soxhlet extraction. In CD: **Test method for evaluation solid waste physical/chemical methods. Laboratory manual**. Vol I-B environmental Protection Agency, 1996.

EPA Method 8270C – Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). In CD: **Test method for evaluation solid waste physical/chemical methods. Laboratory manual**. Vol I-B Environmental Protection Agency, 1996.

EUROPEAN COMMISSION, HEALTH AND CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL, SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD. **Opinion of the scientific committee on food on the risk to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons – occurrence in food.** 2002.

Escartín, E.; Porte, C. Assessment of PAH pollution in coastal areas from the NW Mediterranean through the analysis of fish bile. **Mar. Pollut. Bull.**, V. 38, p.1200 – 1206, 2000.

Falcó G. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: human exposure through the diet in Catalonia, Spain. **J Food Prot**, v. 66, p.2325–2331, 2003.

FAZIO, T.; HOWARD, J. W. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods. In: DEKKER, M. **Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons.** New York, INC., 1983.

FERREIRA, H.O., Aporte de hidrocarbonetos de petróleo para a Bahia de Guanabara, RJ. 2005. Dissertação (Mestrado em Geoquímica) - Universidade Federal Fluminense, Niterói.

FRANCIONI, E., Acumulação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em invertebrados marinhos e avaliação do uso de biomarcadores celulares e bioquímicos no biomonitoramento. 2001. (**Doutorado em Química**) - Universidade Católica – PUC_Rio, Rio de Janeiro.

FRANCIONI, E. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbon in inter-tidal mussel *Perna perna*: Space–time observations, source investigation and genotoxicity. **Science of the Total Environment**, v. 372, p. 515–531, 2007.

FENET, H.; CASELLAS, C.; BONToux, J., Hepatic enzymic activities of the European eel (*Anguilla Anguilla*) as a tool for biomonitoring freshwater streams: laboratory and field caging studies. **Water Sci. Technol.**, v.33, p. 321-329, 1996.

FOUREMAN, G.L., Enzymes involved in metabolism of PAH by fishes and other aquatic animals: hydrolysis and conjugation enzymes (or phase II enzymes) – Part II. In: VARANASI, U., **Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic environment.** Boca Raton, Florida, CRC Press, 1989.

GAGNON, M. M.; HOLDWAY, D. A. Metabolic Enzyme Activities in Fish Gills as Biomarkers of Exposure to Petroleum Hydrocarbons. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 44, p. 92-99, 1999.

HAMACHER, C., Determinação de hidrocarbonetos em amostras de água e sedimento da Baía de Guanabara. 1996. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Católica – PUC_Rio, Rio de Janeiro.

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). **Estatística da Pesca 2007 – Brasil – Grandes Regiões e Unidades da Federação**, Brasília, 2007.

JABLONSKI, S.; AZEVEDO, A. F.; MOREIRA, L. H. A. Fisheries and Conflicts in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 1: p. 79-91, 2006.

JØRGENSEN, A. *et al.* Biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine polychaetes. **Marine Environmental Research** v.65, p. 171–186, 2008.

JONSSON, G. *et al.* The application of HPLC-F and GC-MS to the analysis of selected hydroxy polycyclic hydrocarbons in two certified fish bile reference materials. **J. Environ. Monit.**, v. 5, p. 513-520, 2003.

JONSSON, G. *et al.* Quantitative determination of de-conjugated chrysene metabolites in fish bile by HPLC-fluorescence and GC-MS. **Chemosphere**, v. 54, n.8, p.1085–1097, 2004.

KAMMANN, U. PAH Metabolites in Bile Fluids of Dab (*Limanda limanda*) and Flounder (*Platichthys flesus*): Spatial Distribution and Seasonal Changes. **Env Sci Pollut Res**, v. 14 n. 2, p.102–108, 2007.

KJERFVE, B. *et al.* Oceanographic characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara; **Continental Shelf Research**.; v. 17, n. 13, p. 1609-1643, 1997.

KRAHN, M. M. *et al.* Determination of metabolites of xenobiotics in the bile of fish from polluted waterways. **Xenobiotica**, v.14, p. 633–646, 1984.

KRAHN, M.M.*et al.* Determination of individual metabolites of aromatic compounds in hydrolysed bile of English Sole (*Parophrys vetulus*) from polluted sites in Puget Sound, Washington. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 16, p. 511-522, 1987.

KRAHN, M.M. *et al.* Mass spectrometric analysis for aromatic compounds in bile of fish sampled after the Exxon Valdez oil spill. **Environment Science Technology**, v. 26, n.1, p. 116-126, 1992.

LAW, R.J.; BISCAYA, J. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) – problems and progress in sampling, analysis and interpretation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 29, p. 235-241, 1994.

LE DÛ, M.; BUDIZINSKI, H.; MORIN, B.; AKCHA, F.; BURGEOT, T. Exposure of marine organisms to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH): use of PAH metabolites in monitoring programmes for a better understanding of PAH contamination. **Anais do 16th Annual Meeting of Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC Europe)**, Hoge, Holanda, 2006.

LIMA, A. L. C. Geocronologia de hidrocarbonetos poliaromáticos (PAHS). Estudo de caso: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro. 1996. **Dissertação (Mestrado em Química)** - Pontifícia Universidade Católica do Rio, PUC-Rio, Rio de Janeiro.

MAZEAS, O. Evaluation de l'exposition des organismes aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans le milieu marin par le dosage des metabolites de HAP. 2004. **Tese de Doutorado**, LPTC, Université Bordeaux I, Bordeaux, France.

McDONALD S. J. KENNICUTT II M. C., BROOKS J. M. Evidence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Exposure in Fish from the Antarctic Peninsula. **Marine Pollution Bulletin**, v. 25, n. 9-12, p. 313 317, 1992.

MENICONI, M. F. G. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos no meio ambiente: Diferenciação de fontes em sedimentos e metabólitos em bile de peixes. 2007. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Natal.

NEFF, J. M., **Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment sources, fates and biological effects**. Applied Science Publishers, Barking, Exxes. England, 262p., 1979.

NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration). Survey os Subsistence Fish and Shelfish for exposure to Oil Spilled from the Exxon Valdez, **Technical Memorandum NMFS F/NWC-191**, 1989.

ORECCHIO, S.; CIOTTI, V. P.; CULOTTA, L. Polycyclic aromatic Hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC–MS, profile, levels and sources. **Food and Chemical Toxicology** , v. 47, p. 819-826, 2009.

PERIN, G., R. FABRIS, ET AL. A five-year study on the heavy-metal pollution of Guanabara Bay sediment (Rio de Janeiro, Brazil) and evaluation of the bioavailability by means of geochemical speciation. **Water Research**, v.31, n.12, p.3017-3028. 1997.

PETROBRAS, Identificação dos currais pesqueiros da baía de Guanabara. 2000. 1 CD-Rom.

PETROBRAS. Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo A. Miguez de Mello. Avaliação Ambiental da Baía de Guanabara - Relatório Final. Rio de Janeiro, 2010.

REY-SALGUEIRO, L. *et al.* Occurrence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and their Hydroxylated Metabolites in infant Foods. **Food Chemistry**, V. 115, p. 814-819, 2009.

Richardson, D. M. *et al.* Biliary PAH metabolites and EROD activity in flounder (*Platichthys flesus*) from a contaminated eustarine environment. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 3, p. 610–615, 2001.

RIO DE JANEIRO. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Urbano. **Plano Diretor de Recursos Hídricos da Região da Baía de Guanabara: Relatório final – Síntese**. Rio de Janeiro: Consórcio Ecologus – Agrar, 2005. 190p.

RUDDOCK, P. J.; BIRD, D. J.; McCALLEY, D. V. Bile metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in three species of fish from the Severn estuary. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.51, p.97-105, 2002.

SILVA, D.A.M., Avaliação da contaminação por petróleo no Canal de São Sebastião: marcadores geoquímicos e metabólitos de compostos aromáticos. 2005. Tese (Doutorado em Oceanografia Física) - Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO-USP), São Paulo.

SILVA, D. A. M. *et al.* Metabolites in bile of fish from São Sebastião Channel, São Paulo, Brazil as biomarkers of exposure to petrogenic polycyclic aromatic compounds. **Marine Pollution Bulletin**, v.52, p. 175-183, 2006.

SIOEN I, VAN CAMP J. *et al.* Probabilistic intake assessment of multiple compounds as a tool to quantify the nutritional–toxicological conflict related to seafood consumption. **Chemosphere**, v. 71, p.1056–1066, 2008.

STEIN, J. E., HOM; T.,VARANASI, U. Simultaneous exposure of English sole (*Parophrys vetulus*) to sediment-associated xenobiotics. I Uptake and disposition of C-polychlorinated biphenyls and H-benzo(a)pyrene, **Mar. Environ. Res.**, v. 13, p. 97-119, 1984.

STEIN, J. E.; HOM, T.; CASILAS, E.; FRIEDMAN, A.; VARANASI, U. Simultaneous exposure of English sole (*Parophrys vetulus*) to sediment-associated xenobiotics. II Chronic exposure to an urban estuarine sediment, with added H-benzo(a)pyrene an C-polychlorinated biphenyls. **Mar. Environ. Res.**, v. 22, p. 123-149, 1987.

STEPHENSEN, *et al.* Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland. **Aquatic Toxicology**, v. 48, p.431– 442, 2000.

SZPILMAN, M. **Peixes marinhos do Brasil – guia prático de identificação**. Rio de Janeiro, Brasil, Mauad Editora Ltda., 2000.

VAN DER OOST, R. *et al.* Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla Anguilla*). II. Biomarkers: pollution –induced biochemical responses. **Aquatic Toxicol**, v. 36, p.189-222, 1996.

VARANASI, U.; STEIN, J.E.; NISHIMOTO, M., Biotransformation and disposition of PAH in fish. In: VARANASI, U., **Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic environment**. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1989.

VUORINEN, P.J. *et al.* Use of biliary PAH metabolites as biomarker of pollution in fish from Baltic sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 53, p. 479-487, 2006.

ZEE, D. Baía de Guanabara: Dossiê Sócio Ambiental. Rio de Janeiro, Seminário Internacional Gestão Sustentável da Baía de Guanabara, CIDS/FGV, 2000.

ANEXOS

ANEXO A - Lista dos exemplares de peixes da espécie *Mugil liza* coletados nas seis áreas estudadas da Baía de Guanabara e seus respectivos dados biométricos.

Tabela A1 – Dados Biométricos de *Mugil liza* coletadas na região de fundo da Baía de Guanabara (Áreas de Currais).

Área	Indivíduo	Total (mm)	Padrão (mm)	Peso (g)	Sexo	EM	Material gástrico (%)
Curral Limão	1	37,50	30,00	391,80	I	A	<25
	2	37,50	29,30	410,40	M	B	<25
	3	39,60	31,40	479,50	F	B	50
	4	38,00	30,00	449,90	I	A	0
	5	37,00	29,00	375,35	F	B	<25
	6	36,00	28,30	348,35	I	A	25
	7	38,80	30,00	450,36	M	B	<25
Curral APA	1	49,40	38,60	851,80	F	D	<25
	2	43,80	34,50	658,67	M	B	0
	3	51,40	40,00	1130,22	F	B	0
	4	48,20	38,90	904,02	F	A	0
	5	46,30	36,80	732,18	M	A	<25
	6	51,80	41,20	886,13	M	A	0
	7	43,60	33,80	627,72	M	B	<25
	8	50,00	40,00	842,50	F	B	<25
	9	47,00	37,00	627,15	I	A	<25
	10	47,00	39,00	889,10	I	A	0
	11	47,00	38,00	867,60	F	A	<25
	12	47,00	37,50	710,70	I	A	<25
Curral Olaria	1	42,5	34,2	570,82	I	A	<25
	2	36,5	28,3	367,09	I	A	0
	3	36,3	29,8	371,87	I	A	0
	5	58,9	45,7	1761,58	F	B	<75
	7	46,7	35,7	739,7	I	A	0
	8	47,6	36,5	646,8	M	B	0
	9	44,6	34,5	725,7	I	A	0
	10	40,7	30,8	564,4	I	A	0
	11	41,6	33,5	627,4	I	A	0
	12	45,8	35,4	765,8	F	B	0
	13	40,8	32,4	557,4	F	A	0

Tabela A2. Dados Biométricos de *Mugil liza* coletadas nas regiões de entrada e meio da Baía de Guanabara (Canal, Gradim e Ilha do Governador).

Área	Indivíduo	Total (mm)	Padrão (mm)	Peso (g)	Sexo	EM	Material gástrico (%)
Ilha	1	53,5	42,8	1360,00	F	B/C	0
	2	52,7	40,3	1052,30	M	A	25
	3	42,0	33,6	611,02	I	A	50
	4	51,0	40,3	1025,30	F	A	50
	5	54,2	42,5	1328,70	F	B	50
	6	45,8	35,5	810,40	F	B	50
	7	51,0	40,6	1024,50	M	B	25
	8	52,6	41,7	1188,00	M	A	50
	9	51,8	40,7	1080,00	M	A	50
	10	46,0	36,8	801,90	F	A	50
	11	43,8	34,4	847,90	F	C	25
Canal	1	53,4	41,8	1175,14	F	A	0
	2	48,3	39,2	860,16	I	A	25
	3	57,5	45,8	1442,53	F	A	25
	4	53,8	43,2	1301,90	F	B	50
	5	52,5	41,8	979,84	M	A	50
	6	53,0	41,6	1128,17	M	A	25
	7	53,2	41,7	962,60	I	A	25
	8	54,5	43,5	1193,15	I	A	0
	9	50,5	40,0	928,11	I	A	100
	10	55,0	44,2	1319,27	M	A	0
	11	53,7	42,9	1211,69	I	A	25
	12	53,2	41,8	1236,50	F	C	25
Gradim	1	51,8	41,7	1117,20	M	A	50
	2	49,0	38,4	884,40	M	A	0
	3	52,0	41,2	1150,70	F	B	25
	4	51,0	41,2	988,50	M	A	0
	5	52,4	41,6	970,80	F	A	0
	6	48,0	38,2	848,80	F	A	25
	7	47,4	37,8	821,40	F	A	0
	8	44,5	35,5	706,70	M	A	25
	9	48,5	38,0	876,20	F	A	0
	10	52,00	40,80	1031,00	F	A	0
	11	49,90	39,20	853,20	F	B	0
	12	48,30	38,20	1072,40	F	B	0

ANEXO B - Lista dos HPAs analisados por CG-EM em Tecido Muscular de *Mugil liza*, suas abreviaturas, os padrões internos de quantificação, o padrão de recuperação (surrogate) e as razões massa sobre carga (m/z) utilizadas para sua detecção por CG-EM.

Composto	Abreviatura	Íon de Quantificação m/z	Íon de Confirmação m/z	Padrão interno
Naftaleno	N	128	127	naftaleno-d8
2-Metilnaftaleno	2MN	141	142	naftaleno-d8
1-Metilnaftaleno	1MN	141	142	naftaleno-d8
C2-Naftalenos	C2N	156	141	naftaleno-d8
C3-Naftalenos	C3N	170	155	naftaleno-d8
C4-Naftalenos	C4N	184	169	naftaleno-d8
Acenaftileno	Aceft	152	151	acenafteno-d10
Acenafteno	Ace	153	154	acenafteno-d10
Fluoreno	Flu	165	166	acenafteno-d10
C1-Fluorenos	C1Flu	165	180	acenafteno-d10
C2-Fluorenos	C2Flu	179	194	acenafteno-d10
C3-Fluorenos	C3Flu	208	193	acenafteno-d10
Dibenzotiofeno	DBT	184	152	fenantreno-d10
C1-Dibenzotiofenos	C1DBT	198	197	fenantreno-d10
C2-Dibenzotiofenos	C2DBT	212	211	fenantreno-d10
C3-Dibenzotiofenos	C3DBT	226	113	fenantreno-d10
Fenantreno	Fen	178	176	fenantreno-d10
C1-Fenantrenos+Antracenos	C1FEN/Ant	192	191	fenantreno-d10
C2-Fenantrenos+Antracenos	C2FEN/Ant	206	191	fenantreno-d10
C3-Fenantrenos+Antracenos	C3FEN/Ant	220	205	fenantreno-d10
C4-Fenantrenos+Antracenos	C4FEN/Ant	234	219	fenantreno-d10
Antraceno	Ant	178	176	fenantreno-d10
Fluoranteno	Ft	202	200	fenantreno-d10
Pireno	Pi	202	200	criseno-d12
C1-Fluoranteno+Pirenos	C1FT/Pi	216	215	criseno-d12
C2-Fluoranteno+Pirenos	C2FT/Pi	230	229	criseno-d12
Benzo[a]antraceno	BaA	228	226	criseno-d12
Criseno	Cri	228	226	criseno-d12
C1-Benzo[a]antraceno+crisenos	C1BaA/Cri	242	227	criseno-d12
C2-Benzo[a]antraceno+crisenos	C2BaA/Cri	256	241	criseno-d12
Benzo[b]fluoranteno	BbFt	252	250	perileno-d12
Benzo[k]fluoranteno	BkFt	252	250	perileno-d12
Benzo[e]pireno	BePi	252	250	perileno-d12
Benzo[a]pireno	BaPi	252	250	perileno-d12
Perileno	Per	252	250	perileno-d12
Indeno[1,2,3-cd]pireno	I-Pi	276	278	perileno-d12
Dibenzo[a,h]antraceno	DbahA	278	276	perileno-d12
Benzo[ghi]perileno	BghiPe	276	274	perileno-d12
2-fluorofenol	Surrogate	112	63	naftaleno-d8
Fenol-d6	Surrogate	99	71	naftaleno-d8
Nitrobenzeno-d5	Surrogate	82	54	naftaleno-d8
2-Fluorbifenil	Surrogate	172	171	acenafteno-d10
2,4,6- Tribromofenol	Surrogate	330	332	perileno-d12
p-Terfenil d-14	Surrogate	244	243	criseno-d12
naftaleno-d8 (PI1)	PI (1)	136	108	-
acenafteno-d10 (PI2)	PI (2)	162	164	-
fenantreno-d10(PI3)	PI(3)	188	187	-
criseno-d12(PI4)	PI (4)	240	236	-
perileno-d12 (PI5)	PI(5)	264	260	-

ANEXO C. Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ) em ng/g da técnica de determinação de HPAs em tecido muscular de peixes por CG/MS.

Composto	LD	LQ
Naftaleno	0,33	5,00
2-Metilnaftaleno	0,24	5,00
1-Metilnaftaleno	0,30	5,00
C2-Naftalenos	0,33	5,00
C3-Naftalenos	0,33	5,00
C4-Naftalenos	0,33	5,00
Acenaftileno	0,17	5,00
Acenafteno	0,12	5,00
Fluoreno	0,13	5,00
C1-Fluorenos	0,13	5,00
C2-Fluorenos	0,13	5,00
C3-Fluorenos	0,13	5,00
Dibenzotiofeno	0,34	5,00
C1-Dibenzotiofenos	0,34	5,00
C2-Dibenzotiofenos	0,34	5,00
C3-Dibenzotiofenos	0,34	5,00
Fenantreno	0,69	5,00
C1-Fenantrenos-Antracenos	0,69	5,00
C2-Fenantrenos-Antracenos	0,69	5,00
C3-Fenantrenos-Antracenos	0,69	5,00
C4-Fenantrenos-Antracenos	0,69	5,00
Antraceno	0,27	5,00
Fluoranteno	0,32	5,00
Pireno	0,44	5,00
C1-Pirenos-Fluorantenos	0,44	5,00
C2-Pirenos-Fluorantenos	0,44	5,00
Benzo[a]antraceno	0,17	5,00
Criseno	2,04	5,00
C1-Criseno	2,04	5,00
C2-Crisenos	2,04	5,00
Benzo[b]fluoranteno	2,21	5,00
Benzo[k]fluoranteno	1,36	5,00
Benzo[e]pireno	3,25	5,00
Benzo[a]pireno	1,50	5,00
Perileno	1,18	5,00
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	1,27	5,00
Dibenzo[a,h]antraceno	1,10	5,00
Benzo[ghi]perileno	1,49	5,00

ANEXO D - Lista de metabólitos de HPAs analisados por LC/EM/EM em bile de peixes.

Composto	Código	Íons de Quantificação	Padrão Interno
1-hidroxinaftaleno	1-OHN	201	1- hidroxipireno d9
2-hidroxinaftaleno	2-OHN	216	1- hidroxipireno d9
2-hidroxibifenila	2-OHBi	211	1- hidroxipireno d9
9-hidroxifluoreno	9-OHF	165	1- hidroxipireno d9
9-hidroxifenantreno	9-OHFe	266	1- hidroxipireno d9
1-hidroxifenantreno	1-OHFe	266	1- hidroxipireno d9
2-hidroxifenantreno	2-OHFe	266	1- hidroxipireno d9
3-hidroxifenantreno	3-OHFe	266	1- hidroxipireno d9
4-hidroxifenantreno	4-OHFe	266	1- hidroxipireno d9
1-hidroxipireno	1-OHPi	290	1- hidroxipireno d9
6-hidroxicriseno	1-OHC	316	1- hidroxipireno d9
3-hidroxibenzeno(a)pireno	3-OHBaPi	340	1- hidroxipireno d9
9-hidroxibenzeno(a)pireno	9-OHBaPi	340	1- hidroxipireno d9

ANEXO E - Distribuição de HPAs em tecido muscular de peixes da Espécie *Mugil liza* provenientes da Baía de Guanabara.

Tabela E1 – Concentrações Individuais de HPAs (ng/g peso seco) em tecido muscular de *Mugil liza* da Área do Curral Limão.

Compostos		Amostras							
		BR CL	CL1	CL2	CL3	CL4	CL5	CL6	CL7
Naftaleno	N	<LQ	66,57	23,97	86,99	21,86	18,76	12,60	18,96
2-Metilnaftaleno	2MN	ND	11,57	3,34	5,90	3,08	2,81	3,26	1,79
1-Metilnaftaleno	1MN	ND	3,67	<LQ	2,44	<LQ	<LQ	<LQ	ND
C2-Naftalenos	C2N	ND	15,11	8,69	13,63	9,24	6,70	9,84	9,83
C3-Naftalenos	C3N	ND	9,67	5,23	9,59	5,70	4,76	5,21	6,87
C4-Naftalenos	C4N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acenaftileno	Aceft	<LQ	34,82	19,51	35,15	18,18	15,75	14,84	16,67
Acenafteno	Ace	ND	8,80	7,15	8,56	6,99	7,12	7,17	7,54
Fluoreno	Flu	<LQ	25,55	16,51	37,67	17,24	15,81	14,36	17,96
C1-Fluorenos	C1Flu	<LQ	62,43	21,89	25,41	23,97	18,28	25,52	19,58
C2-Fluorenos	C2Flu	<LQ	180,09	65,56	35,42	46,93	31,87	61,97	44,07
C3-Fluorenos	C3Flu	<LQ	53,02	61,59	64,90	81,91	46,10	44,68	47,19
Dibenzotiofeno	DBT	ND	ND	ND	4,24	ND	ND	ND	ND
C1-Dibenzotiofenos	C1DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Dibenzotiofenos	C2DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C3-Dibenzotiofenos	C3DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenantreno	Fen	<LQ	27,41	20,73	28,70	21,18	20,14	18,87	19,24
C1-Fenantrenos-Antracenos	C1FEN/Ant	<LQ	30,89	24,43	26,53	23,56	21,60	22,54	22,68
C2-Fenantrenos-Antracenos	C2FEN/Ant	<LQ	28,36	23,85	24,91	24,32	19,33	20,56	21,34
C3-Fenantrenos-Antracenos	C3FEN/Ant	<LQ	18,01	49,79	27,97	55,17	16,02	15,90	16,58
C4-Fenantrenos-Antracenos	C4FEN/Ant	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antraceno	Ant	ND	18,45	17,77	18,21	17,17	17,36	17,12	17,30
Fluoranteno	Ft	ND	29,45	26,78	29,59	26,46	25,84	25,51	25,87
Pireno	Pi	<LQ	27,63	26,40	25,48	25,34	27,25	25,93	25,60
C1-Pirenos-Fluorantenos	C1FT/Pi	<LQ	26,71	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Pirenos-Fluorantenos	C2FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]antraceno	BaA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Criseno	Cri	ND	ND	ND	10,81	ND	ND	ND	ND
C1-Criseno	C1BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Crisenos	C2BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[b]fluoranteno	BbFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[k]fluoranteno	BkFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[e]pireno	BePi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]pireno	BaPi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perileno	Per	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	I-Pi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[ghi]perileno	BghiPe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo[a,h]antraceno	DbahA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Somatória de HPAs Prioritárias	S 16 HPAs	0	238,67	158,81	281,16	154,43	148,04	136,40	149,15
Somatória de HPAs	S 38 HPAs	0	678,21	423,18	522,10	428,31	315,51	345,87	339,08

Tabela E2 – Concentrações Individuais de HPAs (ng/g peso seco) em tecido muscular de *Mugil liza* da Área do Curral Olaria.

Compostos		Amostras							
		BR CO	CO7	CO8	CO9	CO10	CO11	CO12	CO13
Naftaleno	N	<LQ	5,86	6,13	8,56	6,73	8,23	8,92	6,76
2-Metilnaftaleno	2MN	ND	ND	ND	1,09	2,97	1,83	1,35	<LQ
1-Metilnaftaleno	1MN	ND	ND	ND	ND	<LQ	ND	<LQ	ND
C2-Naftalenos	C2N	<LQ	5,79	7,02	8,35	9,70	8,49	9,57	8,43
C3-Naftalenos	C3N	ND	3,81	3,46	5,24	8,45	3,83	4,99	6,35
C4-Naftalenos	C4N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acenaftileno	Aceft	<LQ	12,65	12,99	14,15	13,47	13,76	13,71	13,48
Acenafteno	Ace	<LQ	ND	ND	7,76	ND	ND	7,20	7,04
Fluoreno	Flu	<LQ	11,59	11,55	13,08	13,05	12,45	12,78	12,33
C1-Fluorenos	C1Flu	<LQ	15,78	15,18	17,29	18,39	17,76	18,18	17,58
C2-Fluorenos	C2Flu	<LQ	21,54	20,42	29,18	22,28	25,06	26,53	26,25
C3-Fluorenos	C3Flu	ND	34,58	25,09	35,83	33,99	33,71	29,33	36,98
Dibenzotiofeno	DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Dibenzotiofenos	C1DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Dibenzotiofenos	C2DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C3-Dibenzotiofenos	C3DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenantreno	Fen	<LQ	14,51	12,99	17,44	18,90	15,32	17,26	17,79
C1-Fenantrenos-Antracenos	C1FEN/Ant	<LQ	18,02	15,55	20,65	22,94	18,44	19,35	19,91
C2-Fenantrenos-Antracenos	C2FEN/Ant	<LQ	17,30	14,10	18,63	18,24	19,65	16,92	19,79
C3-Fenantrenos-Antracenos	C3FEN/Ant	<LQ	13,31	12,51	15,62	12,50	14,59	12,25	15,69
C4-Fenantrenos-Antracenos	C4FEN/Ant	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antraceno	Ant	ND	15,83	16,22	17,27	17,23	17,24	16,98	16,62
Fluoranteno	Ft	ND	22,02	22,38	27,11	23,41	23,53	23,02	23,87
Pireno	Pi	<LQ	22,20	22,36	26,82	23,74	24,03	23,50	24,62
C1-Pirenos-Fluorantenos	C1FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Pirenos-Fluorantenos	C2FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]antraceno	BaA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Criseno	Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Criseno	C1BaA/Cri	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Crisenos	C2BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[b]fluoranteno	BbFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[k]fluoranteno	BkFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[e]pireno	BePi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]pireno	BaPi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perileno	Per	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	I-Pi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[ghi]perileno	BghiPe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo[a,h]antraceno	DbahA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Somatória de HPAs Prioritários	S 16 HPAs	0	104,65	104,62	132,21	116,53	114,56	123,36	122,50
Somatória de HPAs	S 38 HPAs	0	234,77	217,96	284,08	265,98	257,93	261,83	273,48

Tabela E3 – Concentrações Individuais de HPAs (ng/g peso seco) em tecido muscular de *Mugil liza* da Área do Curral APA.

Compostos		Amostras						
		BR CP	CP02	CP03	CP04	CP06	CP09	CP10
Naftaleno	N	ND	5,71	8,07	8,08	6,59	5,70	7,18
2-Metilnaftaleno	2MN	ND	ND	1,67	1,03	<LQ	ND	<LQ
1-Metilnaftaleno	1MN	ND	ND	1,06	<LQ	ND	ND	ND
C2-Naftalenos	C2N	<LQ	ND	11,55	5,99	6,09	5,08	6,91
C3-Naftalenos	C3N	<LQ	ND	6,31	3,86	3,22	2,73	3,39
C4-Naftalenos	C4N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acenaftileno	Aceft	<LQ	12,08	13,46	13,06	13,26	12,29	12,37
Acenafteno	Ace	ND	6,12	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoreno	Flu	<LQ	10,77	12,98	11,90	12,16	10,72	11,12
C1-Fluorenos	C1Flu	<LQ	12,14	14,38	15,46	14,01	12,43	13,45
C2-Fluorenos	C2Flu	<LQ	16,12	21,17	19,39	19,10	26,54	17,60
C3-Fluorenos	C3Flu	<LQ	21,57	31,92	26,53	27,32	22,68	24,90
Dibenzotiofeno	DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Dibenzotiofenos	C1DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Dibenzotiofenos	C2DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C3-Dibenzotiofenos	C3DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenantreno	Fen	<LQ	12,30	17,53	15,38	13,98	9,67	12,75
C1-Fenantrenos-Antracenos	C1FEN/Ant	<LQ	14,10	18,10	16,85	16,87	10,60	13,77
C2-Fenantrenos-Antracenos	C2FEN/Ant	<LQ	13,42	16,98	15,37	15,48	11,04	13,46
C3-Fenantrenos-Antracenos	C3FEN/Ant	<LQ	10,98	13,86	11,75	12,38	9,52	10,93
C4-Fenantrenos-Antracenos	C4FEN/Ant	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antraceno	Ant	ND	15,03	16,86	16,53	16,69	15,28	15,41
Fluoranteno	Ft	ND	20,18	23,49	22,83	22,64	19,10	20,33
Pireno	Pi	<LQ	20,59	23,46	22,76	22,85	19,41	20,26
C1-Pirenos-Fluorantenos	C1FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Pirenos-Fluorantenos	C2FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]antraceno	BaA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Criseno	Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Criseno	C1BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Crisenos	C2BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[b]fluoranteno	BbFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[k]fluoranteno	BkFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[e]pireno	BePi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]pireno	BaPi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perileno	Per	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	I-Pi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[ghi]perileno	BghiPe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo[a,h]antraceno	DbahA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Somatória de HPAs Prioritários S 16 HPAs		0	102,78	115,84	110,54	108,16	92,17	99,43
Somatória de HPAs	S 38 HPAs	0	191,09	252,84	226,77	222,65	192,79	203,83

Tabela E4 – Concentrações Individuais de HPAs (ng/g peso seco) em tecido muscular de *Mugil liza* da Área do Gradim.

Compostos		Amostras							
		BR GR	GR1	GR2	GR3	GR4	GR6	GR7	GR8
Naftaleno	N	<LQ	21,19	18,81	20,36	16,71	14,42	14,73	13,08
2-Metilnaftaleno	2MN	<LQ	9,89	8,69	10,13	7,85	5,52	5,84	4,73
1-Metilnaftaleno	1MN	ND	2,42	1,76	3,13	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
C2-Naftalenos	C2N	<LQ	16,72	8,24	17,48	13,78	12,39	10,94	10,69
C3-Naftalenos	C3N	<LQ	14,77	9,18	13,98	6,88	8,16	5,15	7,31
C4-Naftalenos	C4N	<LQ	11,95	ND	12,57	ND	7,14	ND	ND
Acenaftileno	Aceft	<LQ	14,37	ND	13,80	13,51	13,76	13,82	13,66
Acenafteno	Ace	ND	ND	6,97	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoreno	Flu	<LQ	14,79	12,58	15,94	14,04	12,36	13,45	13,58
C1-Fluorenos	C1Flu	<LQ	15,14	14,48	14,77	14,26	14,12	13,88	13,69
C2-Fluorenos	C2Flu	<LQ	33,56	20,73	26,13	23,67	27,06	26,90	22,24
C3-Fluorenos	C3Flu	ND	86,05	ND	34,64	43,65	42,99	44,53	34,47
Dibenzotiofeno	DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Dibenzotiofenos	C1DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Dibenzotiofenos	C2DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C3-Dibenzotiofenos	C3DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenantreno	Fen	<LQ	18,08	17,20	17,06	16,25	15,27	14,49	12,28
C1-Fenantrenos-Antracenos	C1FEN/Ant	<LQ	21,04	17,07	17,12	16,59	16,85	15,59	12,45
C2-Fenantrenos-Antracenos	C2FEN/Ant	<LQ	21,43	15,75	15,07	16,76	16,99	14,73	12,89
C3-Fenantrenos-Antracenos	C3FEN/Ant	<LQ	15,65	10,79	10,39	13,49	11,43	11,07	10,39
C4-Fenantrenos-Antracenos	C4FEN/Ant	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antraceno	Ant	ND	17,63	18,19	17,92	17,42	17,80	17,53	17,27
Fluoranteno	Ft	ND	23,28	23,07	22,54	21,60	21,80	21,35	20,65
Pireno	Pi	<LQ	23,81	23,50	22,95	21,96	22,25	21,72	21,60
C1-Pirenos-Fluorantenos	C1FT/Pi	<LQ	22,33	19,84	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Pirenos-Fluorantenos	C2FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]antraceno	BaA	ND	12,90	15,53	15,85	16,77	16,67	16,43	16,34
Criseno	Cri	ND	10,71	10,13	10,09	9,91	9,70	11,74	10,48
C1-Criseno	C1BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Crisenos	C2BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[b]fluoranteno	BbFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[k]fluoranteno	BkFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[e]pireno	BePi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]pireno	BaPi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perileno	Per	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	I-Pi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[ghi]perileno	BghiPe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo[a,h]antraceno	DbahA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Somatória de HPAs Prioritários	S 16 HPAs	0	156,75	145,99	156,51	148,19	144,02	145,27	138,94
Somatória de HPAs	S 38 HPAs	0	427,70	272,50	331,94	305,12	306,68	293,91	267,79

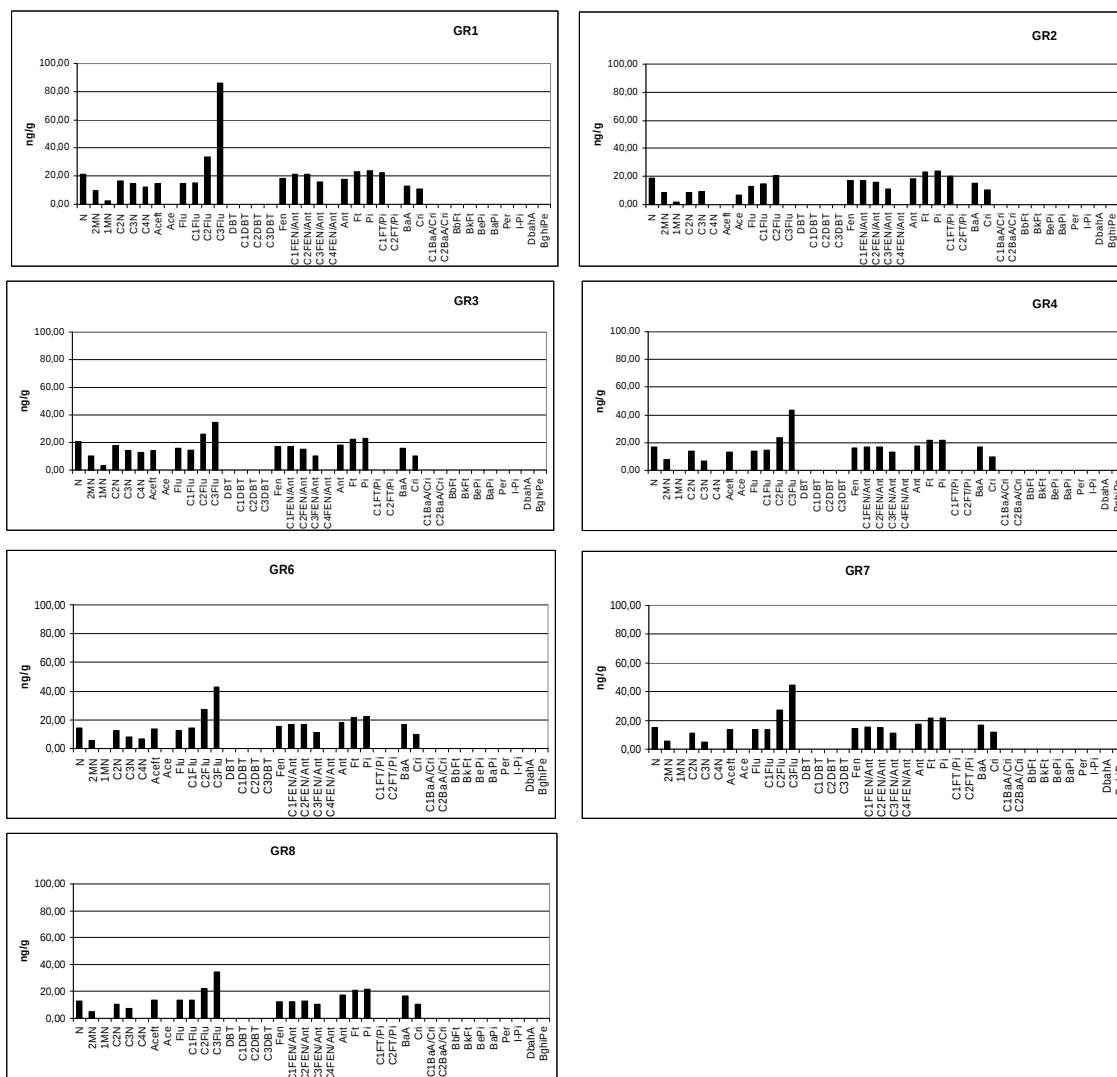
Tabela E5 – Concentrações Individuais de HPAs (ng/g peso seco) em tecido muscular de *Mugil liza* da Área do Canal.

Compostos		Amostras							
		BR CN	CN1	CN2	CN3	CN4	CN5	CN6	CN8
Naftaleno	N	<LQ	11,40	11,27	13,42	10,41	8,64	13,01	10,90
2-Metilnaftaleno	2MN	<LQ	6,49	4,16	8,92	4,26	3,29	8,49	5,10
1-Metilnaftaleno	1MN	ND	3,05	1,40	4,20	1,41	1,24	4,34	1,68
C2-Naftalenos	C2N	<LQ	15,15	11,58	16,65	11,28	10,14	11,42	8,13
C3-Naftalenos	C3N	<LQ	10,46	5,64	8,66	4,93	4,31	7,06	6,04
C4-Naftalenos	C4N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acenaftileno	Aceft	<LQ	13,34	13,48	13,67	13,27	11,98	13,22	12,79
Acenafteno	Ace	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fluoreno	Flu	<LQ	13,21	12,65	13,36	12,57	11,10	12,58	12,16
C1-Fluorenos	C1Flu	<LQ	15,41	14,90	16,02	14,25	12,79	15,88	15,53
C2-Fluorenos	C2Flu	<LQ	22,01	24,52	28,79	23,65	15,58	20,06	21,21
C3-Fluorenos	C3Flu	ND	ND	36,69	40,64	40,84	25,42	29,97	34,65
Dibenzotiofeno	DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Dibenzotiofenos	C1DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Dibenzotiofenos	C2DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C3-Dibenzotiofenos	C3DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenantreno	Fen	<LQ	17,88	16,82	21,91	15,90	14,90	19,95	18,67
C1-Fenantrenos-Antracenos	C1FEN/Ant	<LQ	21,27	17,52	23,09	16,46	14,15	19,92	18,62
C2-Fenantrenos-Antracenos	C2FEN/Ant	<LQ	20,78	17,43	21,32	16,54	13,66	18,66	15,64
C3-Fenantrenos-Antracenos	C3FEN/Ant	ND	16,37	13,92	15,85	13,76	ND	12,09	12,49
C4-Fenantrenos-Antracenos	C4FEN/Ant	ND	ND	ND	7,04	8,17	ND	ND	ND
Antraceno	Ant	ND	16,95	16,98	17,17	27,16	15,02	16,67	15,95
Fluoranteno	Ft	ND	22,66	21,97	25,20	21,54	19,24	22,14	21,42
Pireno	Pi	<LQ	25,16	22,83	25,34	22,14	19,68	23,24	21,81
C1-Pirenos-Fluorantenos	C1FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Pirenos-Fluorantenos	C2FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]antraceno	BaA	ND	13,38	13,41	ND	ND	11,80	13,01	12,54
Criseno	Cri	ND	ND	9,41	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Criseno	C1BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Crisenos	C2BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[b]fluoranteno	BbFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[k]fluoranteno	BkFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[e]pireno	BePi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]pireno	BaPi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perileno	Per	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	I-Pi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[ghi]perileno	BghiPe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo[a,h]antraceno	DbahA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Somatória de HPAs Prioritários	S 16 HPAs	0	133,98	138,83	130,07	122,98	112,35	133,80	126,24
Somatória de HPAs	S 38 HPAs	0	264,96	286,61	321,24	278,53	212,93	281,68	265,31

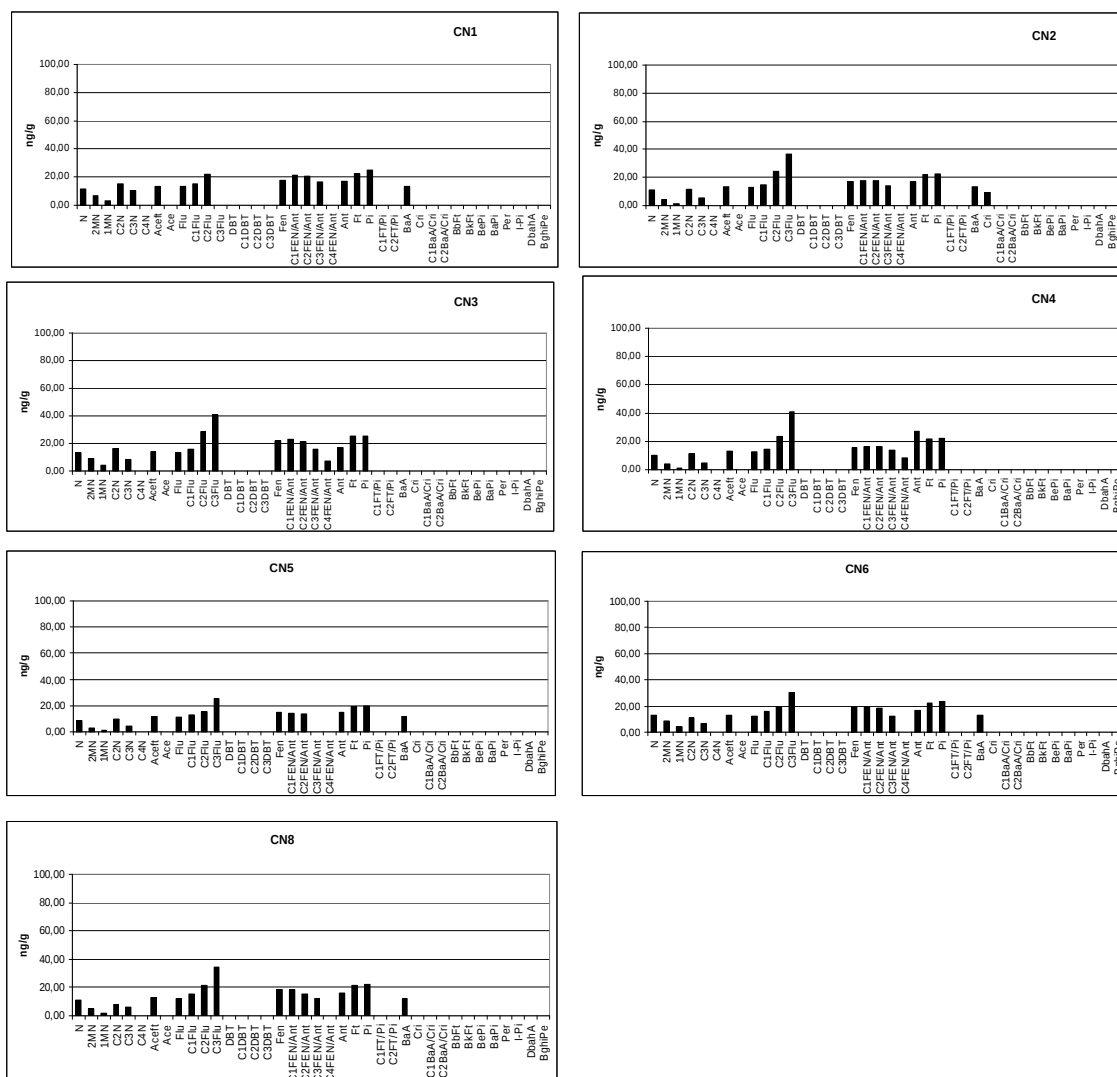
Tabela E6 – Concentrações Individuais de HPAs (ng/g peso seco) em tecido muscular de *Mugil liza* da Área da Ilha do Governador.

Compostos		Amostras							
		BR ILHA	I1	I2	I3	I4	I7	I8	I9
Naftaleno	N	<LQ	8,56	9,72	ND	9,28	8,71	7,73	7,53
2-Metilnaftaleno	2MN	<LQ	3,56	4,80	ND	3,23	3,95	2,77	2,56
1-Metilnaftaleno	1MN	ND	1,73	2,65	ND	1,46	1,88	<LQ	<LQ
C2-Naftalenos	C2N	<LQ	8,64	8,39	ND	7,57	8,18	7,46	7,50
C3-Naftalenos	C3N	<LQ	5,65	4,93	ND	5,34	5,54	4,54	5,28
C4-Naftalenos	C4N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Acenaftileno	Aceft	<LQ	13,68	13,03	ND	13,50	12,35	13,32	13,49
Acenafteno	Ace	ND	7,06	ND	7,47	ND	7,01	ND	ND
Fluoreno	Flu	<LQ	12,81	12,18	12,72	12,62	11,60	12,03	12,40
C1-Fluorenos	C1Flu	<LQ	15,26	15,61	14,86	14,73	13,54	14,78	14,01
C2-Fluorenos	C2Flu	<LQ	19,31	19,64	18,95	18,96	17,82	19,27	16,90
C3-Fluorenos	C3Flu	ND	32,11	31,69	30,91	24,96	25,82	28,61	ND
Dibenzotiofeno	DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Dibenzotiofenos	C1DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Dibenzotiofenos	C2DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C3-Dibenzotiofenos	C3DBT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fenantreno	Fen	<LQ	18,46	18,45	19,12	18,14	15,53	17,51	17,11
C1-Fenantrenos-Antracenos	C1FEN/Ant	<LQ	18,55	18,33	20,05	18,53	15,73	19,11	16,86
C2-Fenantrenos-Antracenos	C2FEN/Ant	<LQ	16,97	15,52	16,54	15,60	13,62	16,13	13,73
C3-Fenantrenos-Antracenos	C3FEN/Ant	<LQ	13,87	13,06	12,53	11,99	9,80	13,95	10,80
C4-Fenantrenos-Antracenos	C4FEN/Ant	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antraceno	Ant	ND	17,43	16,39	16,88	16,80	15,64	16,73	17,00
Fluoranteno	Ft	ND	23,33	21,89	22,41	21,98	19,94	22,75	21,90
Pireno	Pi	<LQ	23,49	22,30	23,51	22,72	20,54	23,80	22,19
C1-Pirenos-Fluorantenos	C1FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Pirenos-Fluorantenos	C2FT/Pi	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]antraceno	BaA	ND	ND	ND	12,65	ND	ND	ND	ND
Criseno	Cri	ND	ND	10,09	ND	ND	ND	ND	ND
C1-Criseno	C1BaA/Cri	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C2-Crisenos	C2BaA/Cri	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[b]fluoranteno	BbFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[k]fluoranteno	BkFt	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[e]pireno	BePi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[a]pireno	BaPi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perileno	Per	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	I-Pi	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo[ghi]perileno	BghiPe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dibenzo[a,h]antraceno	DbahA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Somatória de HPAs Prioritários	S 16 HPAs	0	124,81	124,05	114,75	115,05	111,32	113,86	111,63
Somatória de HPAs	S 38 HPAs	0	260,46	258,68	228,59	237,42	227,20	240,47	199,26

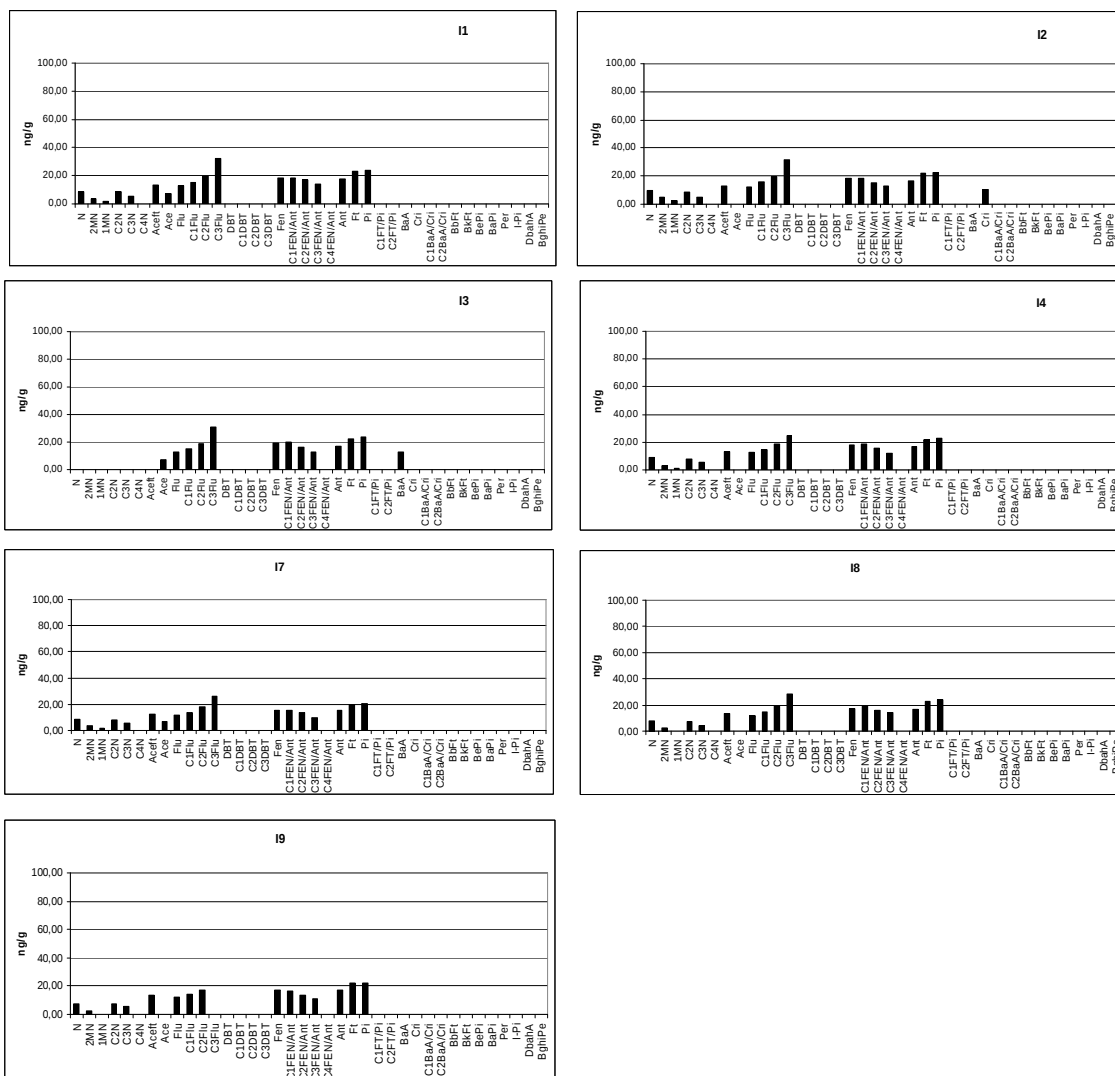
ANEXO F – Histogramas de distribuição de HPAs em tecido muscular de peixes da Espécie *Mugil liza* provenientes da Baía de Guanabara na Área do Gradim.



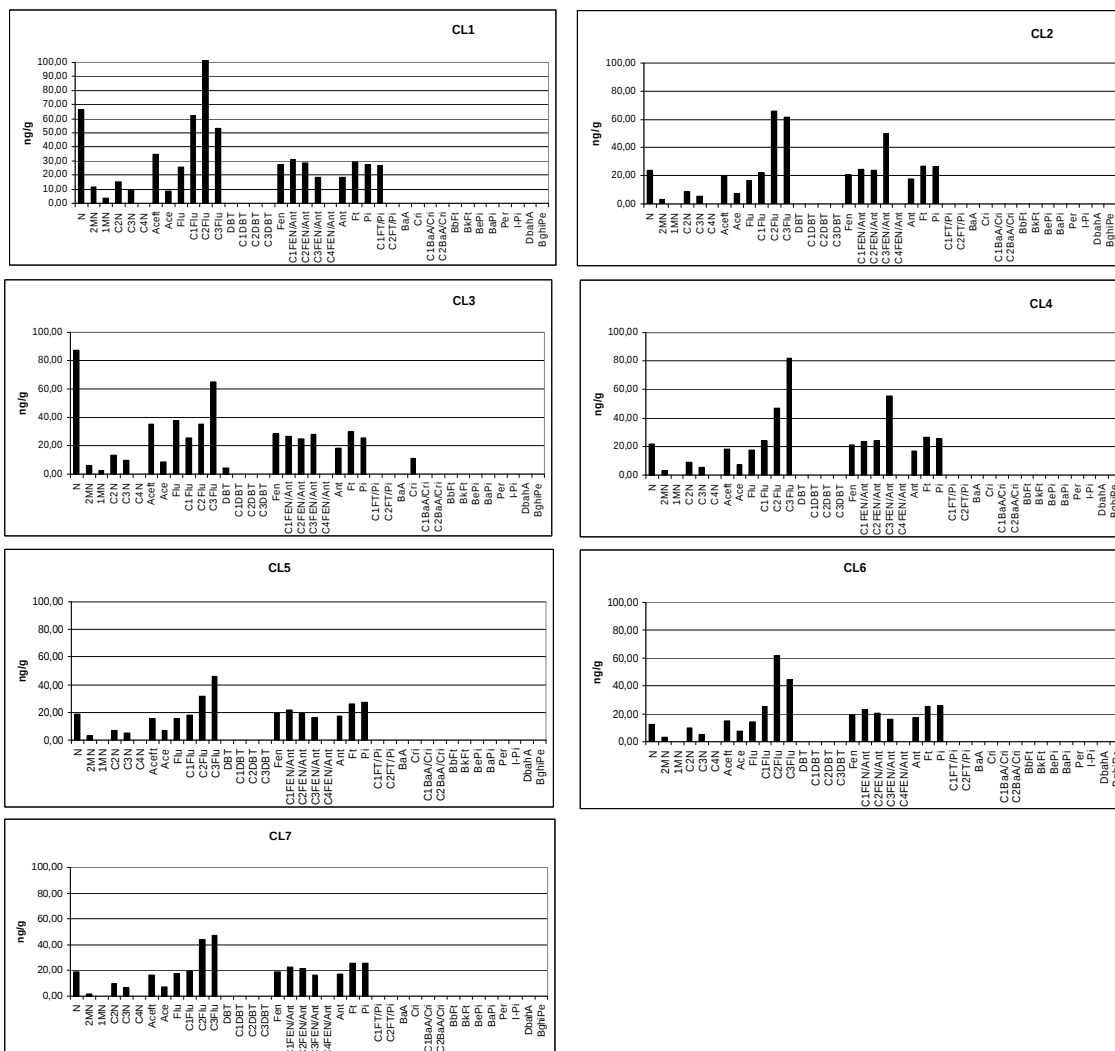
ANEXO G – Histogramas de distribuição de HPAs em tecido muscular de peixes da Espécie *Muqil liza* provenientes da Baía de Guanabara na Área do Canal.



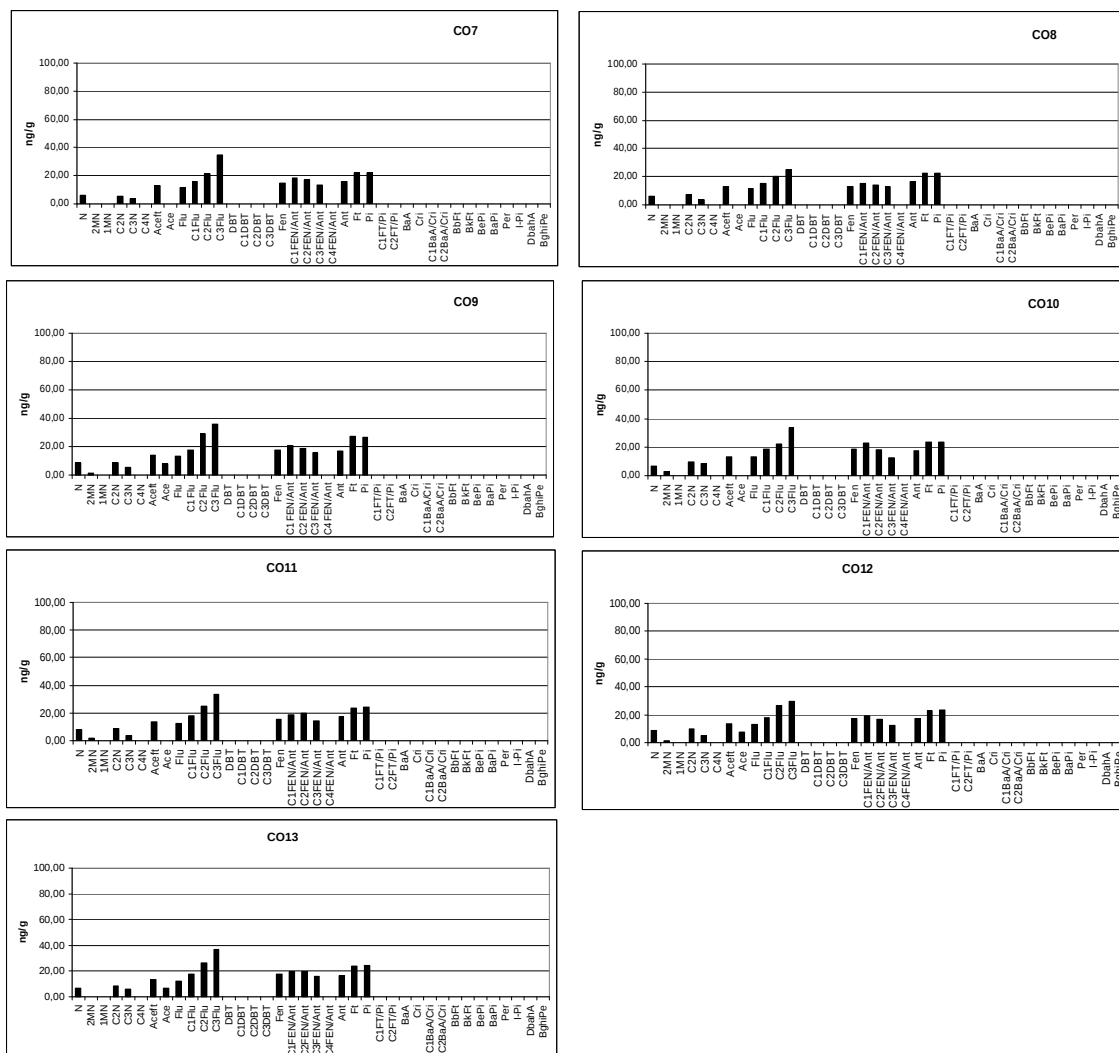
ANEXO H – Histogramas de distribuição de HPAs em tecido muscular de peixes da Espécie *Mugil liza* provenientes da Baía de Guanabara na Área da Ilha.



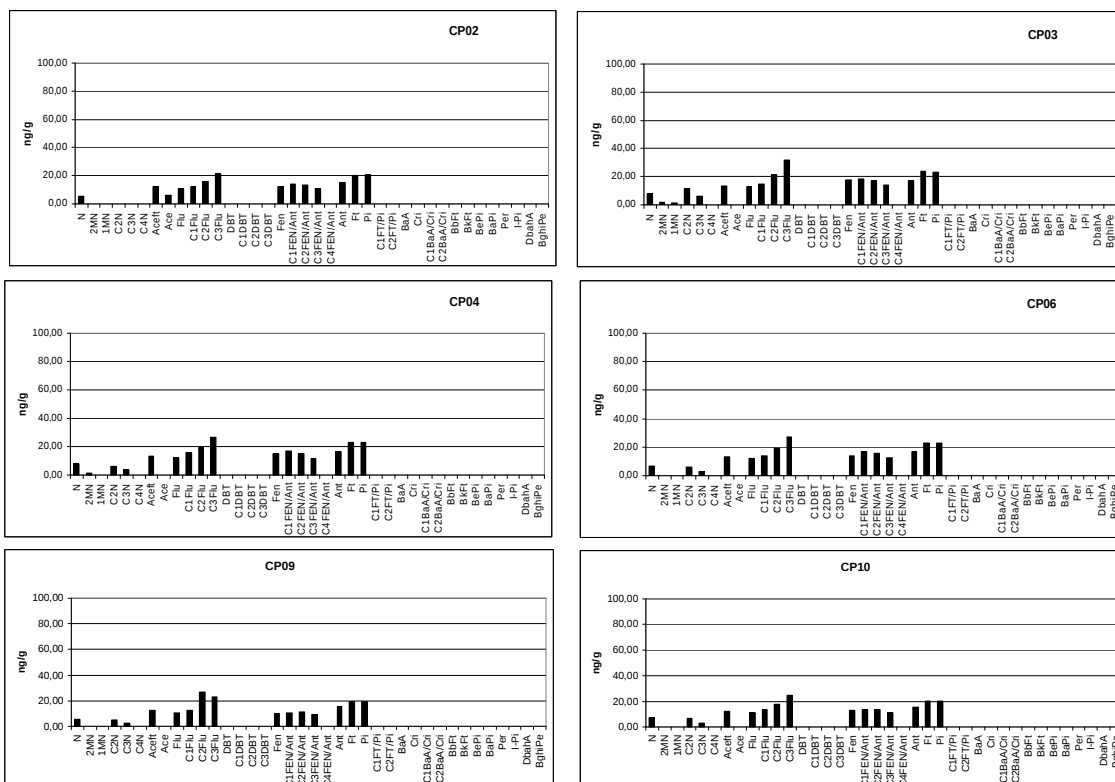
Mugil liza provenientes da Baía de Guanabara na Área do Curral Limão.



ANEXO J – Histogramas de distribuição de HPAs em tecido muscular de peixes da Espécie *Mugil liza* provenientes da Baía de Guanabara na Área do Curral Olaria.



ANEXO K – Histogramas de distribuição de HPAs em tecido muscular de peixes da Espécie *Muqil liza* provenientes da Baía de Guanabara na Área do Curral Piedade.



ANEXO L – Testes Estatísticos

Tabela L1. Teste de Kolmogorov-Smirnorff para dados da Σ 16 HPAs em Tecido muscular de *Mugil liza*.

	soma 16 HPAs	zi	F(zi)	F0,5	g
1	92,1737	-1,9312	0,0267	0,0128	0,0139
2	99,4287	-1,5261	0,0635	0,0385	0,0250
3	102,7804	-1,3389	0,0903	0,0641	0,0262
4	104,6244	-1,2360	0,1082	0,0897	0,0185
5	104,6481	-1,2346	0,1085	0,1154	0,0069
6	108,1642	-1,0383	0,1496	0,1410	0,0085
7	110,5365	-0,9058	0,1825	0,1667	0,0158
8	111,3220	-0,8620	0,1944	0,1923	0,0020
9	111,6252	-0,8450	0,1990	0,2179	0,0189
10	112,3485	-0,8047	0,2105	0,2436	0,0331
11	113,8610	-0,7202	0,2357	0,2692	0,0335
12	114,5621	-0,6810	0,2479	0,2949	0,0470
13	114,7543	-0,6703	0,2513	0,3205	0,0692
14	115,0461	-0,6540	0,2565	0,3462	0,0896
15	115,8434	-0,6095	0,2711	0,3718	0,1007
16	116,5288	-0,5712	0,2839	0,3974	0,1135
17	122,5024	-0,2377	0,4061	0,4231	0,0170
18	122,9807	-0,2109	0,4165	0,4487	0,0323
19	123,3637	-0,1896	0,4248	0,4744	0,0495
20	124,0539	-0,1510	0,4400	0,5000	0,0600
21	124,8148	-0,1085	0,4568	0,5256	0,0689
22	126,2352	-0,0292	0,4883	0,5513	0,0629
23	130,0683	0,1848	0,5733	0,5769	0,0036
24	132,2123	0,3045	0,6196	0,6026	0,0171
25	133,7999	0,3932	0,6529	0,6282	0,0247
26	133,9831	0,4034	0,6567	0,6538	0,0028
27	136,3991	0,5383	0,7048	0,6795	0,0253
28	138,8250	0,6738	0,7498	0,7051	0,0447
29	138,9428	0,6804	0,7519	0,7308	0,0211
30	144,0224	0,9640	0,8325	0,7564	0,0761
31	145,2711	1,0338	0,8494	0,7821	0,0673
32	145,9869	1,0737	0,8585	0,8077	0,0508
33	148,0385	1,1883	0,8826	0,8333	0,0493
34	148,1860	1,1965	0,8843	0,8590	0,0253
35	149,1492	1,2503	0,8944	0,8846	0,0098
36	154,4251	1,5449	0,9388	0,9103	0,0286
37	156,5105	1,6614	0,9517	0,9359	0,0158
38	156,7463	1,6745	0,9530	0,9615	0,0085
39	158,8113	1,7899	0,9633	0,9872	0,0239

Média	126,7584	Dmax	0,1263
Desvio	17,9081	Dt (40)	0,2100

Para amostra menor que 100, o valor de $D_{\text{máx}} = 0,1263$ deve ser comparado com o valor tabelado $D_t = 0,2100$. Como o valor calculado de $D_{\text{máx}}$ é menor que o valor crítico tabelado D_t , conclui-se que a concentração dos 16 HPAs em tecido de *Mugil liza* na Baía de Guanabara segue a distribuição normal.

Tabela L2. Teste de Kolmogorov-Smirnorff para dados da Σ 38 HPAs em Tecido muscular de *Mugil liza*.

	soma 16HPAs	zi	F(zi)	F0,5	g
1	191,09	-1,4017	0,0805	0,0128	0,0677
2	192,79	-1,3732	0,0848	0,0385	0,0464
3	199,26	-1,2645	0,1030	0,0641	0,0389
4	203,83	-1,1877	0,1175	0,0897	0,0277
5	212,93	-1,0349	0,1504	0,1154	0,0350
6	217,96	-0,9503	0,1710	0,1410	0,0299
7	222,65	-0,8717	0,1917	0,1667	0,0250
8	226,77	-0,8023	0,2112	0,1923	0,0189
9	227,20	-0,7952	0,2133	0,2179	0,0047
10	228,59	-0,7718	0,2201	0,2436	0,0235
11	234,77	-0,6680	0,2521	0,2692	0,0172
12	237,42	-0,6235	0,2665	0,2949	0,0284
13	240,47	-0,5723	0,2836	0,3205	0,0369
14	252,84	-0,3644	0,3578	0,3462	0,0116
15	257,93	-0,2789	0,3902	0,3718	0,0184
16	258,68	-0,2664	0,3950	0,3974	0,0025
17	260,46	-0,2365	0,4065	0,4231	0,0165
18	261,83	-0,2135	0,4155	0,4487	0,0332
19	264,96	-0,1608	0,4361	0,4744	0,0382
20	265,31	-0,1549	0,4384	0,5000	0,0616
21	265,98	-0,1437	0,4429	0,5256	0,0828
22	267,79	-0,1132	0,4549	0,5513	0,0964
23	272,50	-0,0342	0,4864	0,5769	0,0906
24	273,48	-0,0178	0,4929	0,6026	0,1097
25	278,53	0,0670	0,5267	0,6282	0,1015
26	281,68	0,1200	0,5477	0,6538	0,1061
27	284,08	0,1603	0,5637	0,6795	0,1158
28	286,61	0,2028	0,5803	0,7051	0,1248
29	293,91	0,3254	0,6275	0,7308	0,1032
30	305,12	0,5137	0,6963	0,7564	0,0601
31	306,68	0,5399	0,7054	0,7821	0,0767
32	315,51	0,6883	0,7544	0,8077	0,0533
33	321,24	0,7845	0,7836	0,8333	0,0497
34	331,94	0,9643	0,8326	0,8590	0,0264
35	339,08	1,0841	0,8608	0,8846	0,0238
36	345,87	1,1982	0,8846	0,9103	0,0257
37	423,18	2,4969	0,9937	0,9359	0,0578
38	427,70	2,5729	0,9950	0,9615	0,0334
39	428,31	2,5831	0,9951	0,9872	0,0079

Média	274,5366	Dmax	0,1376
Desvio	59,5301	Dt (40)	0,2100

Para numero de amostras menor que 100, o valor de $D_{\text{máx}} = 0,1376$ deve ser comparado com o valor tabelado $D_t = 0,2100$. Como o valor calculado de $D_{\text{máx}}$ é menor que o valor crítico tabelado D_t , conclui-se que a concentração dos 38 HPAs em tecido de *Mugil liza* na Baía de Guanabara segue a distribuição normal.

Tabela L3. Teste de Kolmogorov-Smirnorff para dados de metabólitos de HPAs em Bile de *Mugil Liza*.

Somatório Metabólitos	Zi	F(zi)	F0,5	g
261,4446	-1,2466	0,1063	0,0185	0,0878
276,1066	-1,2230	0,1107	0,0556	0,0551
452,8308	-0,9397	0,1737	0,0926	0,0811
461,4016	-0,9260	0,1772	0,1296	0,0476
561,0835	-0,7662	0,2218	0,1667	0,0551
575,2556	-0,7434	0,2286	0,2037	0,0249
689,5103	-0,5602	0,2877	0,2407	0,0469
692,2349	-0,5559	0,2891	0,2778	0,0114
702,3187	-0,5397	0,2947	0,3148	0,0201
713,0337	-0,5225	0,3006	0,3519	0,0512
713,0337	-0,5225	0,3006	0,3889	0,0882
819,0371	-0,3526	0,3622	0,4259	0,0637
820,2897	-0,3506	0,3630	0,4630	0,1000
887,0949	-0,2435	0,4038	0,5000	0,0962
916,9766	-0,1956	0,4225	0,5370	0,1146
930,1589	-0,1744	0,4308	0,5741	0,1433
948,6805	-0,1447	0,4425	0,6111	0,1686
1102,4364	0,1018	0,5405	0,6481	0,1076
1188,6042	0,2399	0,5948	0,6852	0,0904
1233,5836	0,3121	0,6225	0,7222	0,0997
1255,4677	0,3471	0,6358	0,7593	0,1235
1383,3211	0,5521	0,7096	0,7963	0,0867
1555,2977	0,8279	0,7961	0,8333	0,0372
1604,8266	0,9073	0,8179	0,8704	0,0525
1923,8721	1,4188	0,9220	0,9074	0,0146
2587,4516	2,4827	0,9935	0,9444	0,0490
2796,2390	2,8174	0,9976	0,9815	0,0161

Média	1038,9478	Dmax	0,1872
Desvio	623,7206	Dt (30)	0,2420

Como número de amostras é menor que 100, o valor de $D_{\text{máx}} = 0,1872$ deve ser comparado com o valor tabelado $D_t = 0,2420$. Como o valor calculado de $D_{\text{máx}}$ é menor que o valor crítico tabelado D_t , conclui-se que a concentração dos metabólitos de HPAs em bile de *Mugil liza* nas três regiões amostradas da Baía de Guanabara segue a distribuição normal.

- Teste F e T – Comparativo entre as áreas

Tabela L4. Dados da Σ 16 HPAs em Tecido muscular de *Mugil liza*

comparativo Canal - APA	
F(calc)	1,782937234
F(tab)	4,387374187
var media	1,769963615
tcalc	5,043507777
ttab	2,200985159

comparativo Limao – APA	
F(calc)	1,91682
F(tab)	6,256057
var media	1,832677
tcalc	6,749084
ttab	2,262157

comparativo Ilha - APA	
F(calc)	2,472527237
F(tab)	4,387374187
var media	1,571376374
tcalc	2,37471923
ttab	2,200985159

comparativo Olaria - APA	
F(calc)	1,031467
F(tab)	4,387374
var media	2,288714
tcalc	1,798152
ttab	2,200985

comparativo Gradim - APA	
F(calc)	2,524237263
F(tab)	4,387374187
var media	1,560858184
tcalc	8,856316274
ttab	2,200985159

Quando o valor calculado de T_{calc} é menor que o valor tabelado T_{tab} , conclui-se que não há diferença significativa entre os valores de concentração de HPAs no tecido de *Mugil liza* entre as áreas em que se realizou o teste de comparação. Caso contrário, existem diferenças significativas entre os dados.

- Dados de Metabólitos de HPAs em Bile de *Mugil liza*

Tabela L5. Dados da Σ 16 HPAs em Tecido muscular de *Mugil liza*

comparativo Olaria - APA		comparativo Limão – APA	
F(calc)	1,38795346	F(calc)	5,4604466
F(tab)	3,13728011	F(tab)	3,48165865
var media	142998,626	var media	6,55710536
tcalc	0,55949689	tcalc	2,57015083
ttab	2,09302405	ttab	2,44691185

Quando o valor calculado de *Tcalc* é menor que o valor tabelado *Ttab*, conclui-se que não há diferença significativa entre os valores de concentração de metabólitos de HPAs em bile de *Mugil liza* entre as áreas em que se realizou o teste de comparação. Caso contrário, existem diferenças significativas entre os dados.

ANEXO M - Resultados dos metabólitos individuais de HPAs (ng/g de bile) de amostras de Bile de *Mugil liza* das regiões de currais da BG.

AMOSTRA	CURRAL	2-Naphtol	1-Naphtol	2 OHBi	2+3 OHPhe	1+9 OHPhe	4 OHPhe	3 OHFluo	1 OHPyr	1 OHChrys	3 OHBaP	9 OHBaP
BR2	LIMÃO	20,05	9,11	94,54	22,56	20,80	2,12	0,00	900,10	33,17	0,00	0,00
BR3	LIMÃO	31,48	5,72	449,26	26,60	27,50	13,06	241,10	571,15	14,79	1,61	1,06
BR4	LIMÃO	133,48	3,29	166,07	42,69	32,29	2,65	0,00	1529,57	11,97	0,74	1,14
BR5	LIMÃO	18,88	5,15	149,04	15,38	17,49	3,16	0,00	603,56	5,96	1,16	0,51
BR6	LIMÃO	81,11	7,46	160,45	59,56	35,73	11,99	0,00	2137,53	91,05	2,09	0,46
BR7	LIMÃO	112,11	10,73	625,57	762,73	779,72	0,00	122,26	298,36	76,21	1,09	7,46
BR14	OLARIA	0,91	6,91	240,65	1,21	0,82	0,22	6,77	0,45	0,71	1,94	0,85
BR15	OLARIA	3,91	4,97	230,86	18,01	18,58	5,57	0,00	397,35	6,17	5,58	1,23
BR16	OLARIA	1,15	4,39	71,95	8,76	5,67	6,01	17,21	153,14	1,82	4,93	1,08
BR18	OLARIA	0,24	0,00	661,33	0,39	0,34	0,18	27,13	21,90	0,46	0,82	0,23
BR26	OLARIA	0,24	0,00	661,33	0,39	0,34	0,18	27,13	21,90	0,46	0,82	0,23
BR28	OLARIA	8,26	2,35	641,05	7,25	6,50	1,81	278,92	235,49	3,39	1,21	2,39
BR29	OLARIA	4,40	2,61	449,67	6,90	5,44	4,38	0,00	224,19	3,01	1,34	0,38
BR30	OLARIA	9,62	7,94	335,23	9,68	8,49	0,50	117,74	192,67	4,22	2,62	0,80
BR31	OLARIA	22,90	20,71	277,07	26,54	20,58	3,75	759,87	466,76	2,75	0,00	3,90
BR32	OLARIA	15,33	9,71	140,46	10,96	14,41	1,29	151,12	219,25	6,45	4,81	1,46
BR33	OLARIA	10,41	23,54	234,38	29,80	22,10	12,20	0,00	864,40	17,51	9,33	9,93
BR49	APA	1,10	1,21	155,94	24,88	9,91	0,87	0,00	227,64	1,55	0,00	29,73
BR50	APA	20,02	3,68	471,10	20,70	11,25	0,93	41,09	240,80	2,36	7,11	0,00
BR51	APA	15,15	2,38	231,44	35,08	17,87	3,62	98,99	467,77	8,56	1,84	4,38
BR52	APA	4,37	1,81	255,66	15,76	7,54	2,05	57,67	212,86	1,85	0,00	1,51
BR53	APA	18,30	0,00	363,81	22,92	17,58	0,21	0,00	486,44	1,29	3,90	2,52
BR55	APA	14,50	0,00	374,93	24,51	26,05	2,02	114,82	365,18	6,15	0,00	2,00
BR57	APA	7,42	5,97	379,81	30,42	28,56	0,80	0,00	428,18	64,40	0,00	3,11
BR58	APA	48,85	8,07	608,72	54,21	30,01	5,10	180,47	612,28	0,00	6,25	1,35
BR59	APA	34,74	24,29	383,49	59,20	28,42	3,62	123,18	564,26	9,52	15,31	9,45
BR60	APA	5,47	15,31	237,75	26,10	10,62	0,98	0,00	146,19	4,50	14,48	0,00

ANEXO N - Distribuição de HPAs em sedimentos da Baía de Guanabara nas estações próximas às áreas de coleta de peixes.

Tabela N1 – Resultados de HPAs, em ng g⁻¹, nas amostras de sedimento coletadas na Baía de Guanabara em agosto de 2006.

Amostra	BG02	BG03	BG08	BG09	BG10	BG13
N	1,0	Nd	16,8	1,0	16,3	4,0
2MN	< 0,3	Nd	6,8	0,4	35,3	2,2
1MN	1,4	Nd	27,8	0,7	8,5	9,4
C2N	1,6	Nd	46,9	2,0	100,0	22,1
C3N	1,4	Nd	48,5	1,2	84,7	20,3
C4N	1,3	Nd	34,6	2,0	88,5	16,9
Aceft	2,5	< 0,3	83,4	5,8	61,9	38,2
Ace	< 0,3	Nd	11,8	0,3	10,3	6,8
Flu	0,6	Nd	20,9	1,0	21,2	10,9
C1Flu	1,2	Nd	23,3	2,2	34,1	13,3
C2Flu	1,8	Nd	45,0	5,9	51,2	33,0
C3Flu	2,5	Nd	72,4	11,9	269,4	47,4
DBT	< 0,3	Nd	11,5	0,6	15,0	17,6
C1DBT	0,3	Nd	27,1	1,8	47,3	36,7
C2DBT	0,8	0,4	76,9	4,9	111,1	110,6
C3DBT	1,1	Nd	122,3	7,5	57,1	109,0
Fen	4,9	0,5	91,9	10,5	80,3	174,5
C1Fen	6,8	0,7	100,6	11,2	67,9	268,4
C2Fen	9,2	1,2	159,1	14,3	177,5	254,5
C3Fen	9,9	1,1	182,5	14,4	215,3	255,6
C4Fen	7,4	Nd	134,2	10,9	168,5	240,5
Ant	1,4	Nd	54,4	4,6	59,6	73,6
Ft	13,4	0,9	207,0	31,1	88,6	165,9
Pi	15,8	1,6	249,6	43,6	343,9	244,8
C1Pi	16,8	0,7	308,2	32,3	295,5	194,5
C2Pi	14,7	0,6	279,3	20,5	254,0	145,2
BaA	17,2	0,8	219,1	43,1	223,8	141,0
Cri	16,5	0,7	174,4	35,5	193,3	153,7
C1Cri	18,0	0,4	277,0	27,2	190,3	159,8
C2Cri	12,5	0,6	221,8	17,2	217,4	137,0
BbFt	37,0	0,9	531,9	53,0	428,9	333,9
BkFt	11,3	0,4	75,7	23,2	82,2	113,7
BePi	11,2	0,5	87,9	24,8	92,7	136,0
BaPi	16,3	0,6	458,4	34,3	461,5	218,9
Per	3,6	< 0,3	51,6	12,0	36,5	52,3
I-Pi	19,0	0,6	477,4	27,2	279,4	215,7
DBahA	3,3	0,3	61,9	7,3	63,1	61,6
BghiPe	16,0	0,9	384,0	23,6	278,4	185,9
TOTAL 16 HPAs	176	8	3119	345	2693	2143
TOTAL HPAs	300	14	5464	571	5311	4425
Recuperação (%)	90,44	85,53	77,81	73,39	101,56	92,94
2,6 + 3,5 C2Fen	1,1	0,2	16,8	8,8	19,8	28,4
1,7 C2Fen	2,4	0,4	42,2	3,1	41,3	52,1

Legenda:

N:Naftaleno; 2MN: 2Metilnaftaleno; 1MN: 1Metilnaftaleno; C2N: C2 naftalenos; C3N: C3 naftalenos; C4N: C4 naftalenos; Ace: Acenafteno; Aceft: Acenaftileno; Flu: Fluoreno; C1Flu: C1 fluorenos; C2Flu: C2 fluorenos; C3Flu: C3 fluorenos; DBT: Dibenzotiofeno; C1DBT: C1 dibenzotiofenos; C2DBT: C2 dibenzotiofenos; C3DBT: C3 dibenzotiofenos; Fen: Fenantreno; C1Fen: C1

fenantrenos: C2Fen: C2 fenantrenos; C3Fen: C3 fenantrenos; C4Fen: C4 fenantrenos; Ant: Antraceno; Ft: Fluoranteno; Pi: Pireno; C1Pi: C1 pirenos; C2Pi: C2 pirenos; BaA: Benzo(a)antraceno; Cri: Criseno; C1Cri: C1 crisenos; C2Cri: C2 crisenos; BbFt: Benzo(b)fluoranteno; BkFt: benzo(k)fluoranteno; BaPi: Benzo(a)pireno; Per: Perileno I-Pi: Indeno(1,2,3-cd)pireno; DbahA: Dibenzo(a,h)antraceno; BghiPe: Benzo(ghi)perileno. nd = não detectado; Limite de quantificação = 0,3 ng g⁻¹; Recuperação (%) do padrão subrogado p-terfenil-d₁₄.

Tabela N2. (Continuação) – Resultados de HPAs, em ng g⁻¹, nas amostras de sedimento coletadas na Baía de Guanabara em agosto de 2006.

Amostra	BG21	BG22	BG23	BG24	BG25	BG28
N	2,5	0,5	0,6	3,8	10,0	1,4
2MN	0,8	1,3	0,3	3,0	13,5	0,5
1MN	1,9	< 0,3	0,6	0,8	3,3	3,7
C2N	5,3	7,1	1,6	7,4	38,4	9,3
C3N	2,0	12,5	1,8	8,2	37,0	10,2
C4N	1,9	16,6	nd	13,6	46,1	6,9
Aceft	1,2	1,1	0,3	1,7	45,2	7,5
Ace	0,4	< 0,3	< 0,3	0,4	4,9	0,9
Flu	1,1	1,8	0,5	1,6	12,1	2,5
C1Flu	3,8	7,6	0,9	4,7	24,8	4,2
C2Flu	5,7	10,2	2,6	30,4	22,4	9,8
C3Flu	11,3	24,5	2,8	26,9	107,0	15,7
DBT	0,5	1,6	< 0,3	1,3	7,2	2,3
C1DBT	1,2	7,8	0,4	3,6	18,0	4,6
C2DBT	2,4	12,9	1,2	9,3	48,7	15,2
C3DBT	1,7	24,2	2,1	12,6	42,8	29,2
Fen	5,7	9,8	7,4	6,2	41,8	14,8
C1Fen	5,8	12,1	6,1	8,7	42,3	19,7
C2Fen	10,2	20,5	7,0	19,7	83,8	29,3
C3Fen	6,3	19,9	6,6	29,6	107,8	37,4
C4Fen	4,2	11,8	4,5	29,0	83,3	38,2
Ant	1,5	3,3	1,6	2,2	33,6	8,8
Ft	13,2	13,3	20,9	15,7	51,2	32,5
Pi	11,2	16,7	15,1	16,2	106,8	34,3
C1Pi	8,0	13,0	6,7	14,8	140,1	37,8
C2Pi	4,5	7,9	4,5	15,3	124,2	44,0
BaA	8,0	10,9	11,5	12,1	104,4	27,1
Cri	9,2	12,0	12,5	11,4	82,2	25,7
C1Cri	6,5	7,7	6,3	12,9	113,4	42,8
C2Cri	4,2	6,8	4,0	20,8	137,5	55,8
BbFt	17,9	21,5	19,3	17,7	308,2	54,7
BkFt	7,9	7,4	5,7	7,0	64,4	22,0
BePi	9,4	9,4	6,7	8,0	69,0	23,4
BaPi	10,0	12,2	11,6	12,1	107,2	37,4
Per	17,2	38,0	78,8	27,3	40,1	21,5
I-Pi	9,2	17,7	12,7	17,5	230,1	42,1
DBahA	2,2	4,7	2,0	5,4	44,3	13,7
BghiPe	12,0	15,9	12,2	15,7	220,4	44,8
TOTAL 16 HPAs	113	149	134	147	1467	370
TOTAL HPAs	228	422	280	455	2817	831
Recuperação (%)	74,30	103,87	90,10	104,1	81,9	85,42
2,6 + 3,5 C2Fen	6,4	2,3	0,7	3,3	9,3	3,0
1,7 C2Fen	1,7	7,6	2,4	7,6	17,1	11,2

Legenda:

N: Naftaleno; 2MN: 2Metilnaftaleno; 1MN: 1Metilnaftaleno; C2N: C2 naftalenos; C3N: C3 naftalenos; C4N: C4 naftalenos; Ace: Acenafteno; Aceft: Acenaftileno; Flu: Fluoreno; C1Flu: C1 fluorenos; C2Flu: C2 fluorenos; C3Flu: C3 fluorenos; DBT: Dibenzotiofeno; C1DBT: C1 dibenzotiofenos; C2DBT: C2 dibenzotiofenos; C3DBT: C3 dibenzotiofenos; Fen: Fenantreno; C1Fen: C1 fenantrenos; C2Fen: C2 fenantrenos; C3Fen: C3 fenantrenos; C4Fen: C4 fenantrenos; Ant: Antraceno; Ft: Fluoranteno; Pi: Pireno; C1Pi: C1 pirenos; C2Pi: C2 pirenos; BaA: Benzo(a)antraceno; Cri: Criseno; C1Cri: C1 crisenos; C2Cri: C2 crisenos; BbFt: Benzo(b)fluoranteno; BkFt: benzo(k)fluoranteno; BaPi: Benzo(a)pireno; Per: Perileno I-Pi: Indeno(1,2,3-cd)pireno; DbahA: Dibenzo(a,h)antraceno; BghiPe: Benzo(ghi)perileno. nd = não detectado; Limite de quantificação = 0,3 ng g⁻¹; Recuperação (%) do padrão subrogado p-terfenil-d₁₄.

Tabela N3 – Resultados de HPAs, em ng g⁻¹, nas amostras de sedimento coletadas na Baía de Guanabara em agosto de 2006.

Amostra	BG30	BG36	BG41	BG42
N	2,3	< 0,3	6,3	8,7
2MN	1,3	< 0,3	2,2	2,9
1MN	7,4	< 0,3	6,2	9,1
C2N	21,3	1,2	55,4	55,0
C3N	24,1	1,8	85,9	53,7
C4N	19,0	3,6	71,1	49,0
Aceft	11,8	2,5	9,2	13,0
Ace	2,7	0,3	4,1	3,2
Flu	5,8	0,6	8,3	8,5
C1Flu	13,6	1,5	29,2	28,0
C2Flu	27,3	5,3	52,1	27,6
C3Flu	41,6	13,7	62,9	93,4
DBT	5,2	0,5	7,6	15,6
C1DBT	13,2	1,6	20,1	49,7
C2DBT	38,5	5,6	52,7	39,1
C3DBT	67,4	11,3	122,5	48,7
Fen	36,2	12,5	28,9	51,4
C1Fen	46,1	12,7	56,0	35,6
C2Fen	67,3	18,8	74,1	248,6
C3Fen	91,8	18,7	89,5	219,4
C4Fen	79,5	16,1	77,1	215,1
Ant	15,0	4,2	9,1	18,2
Ft	69,3	39,9	40,9	125,1
Pi	99,0	34,8	65,3	70,9
C1Pi	76,6	25,0	84,0	97,8
C2Pi	87,9	16,2	65,3	96,0
BaA	63,8	30,6	38,4	39,0
Cri	58,9	26,4	37,0	41,2
C1Cri	78,6	15,7	52,0	54,0
C2Cri	105,9	13,1	84,2	173,8
BbFt	78,6	46,6	56,2	66,1
BkFt	23,7	15,7	15,4	23,3
BePi	31,8	17,3	20,6	34,1
BaPi	50,4	30,5	31,0	36,0
Per	24,4	8,8	51,6	86,5
I-Pi	57,5	34,7	38,6	32,8
DBahA	17,9	9,9	13,3	9,3
BghiPe	55,1	28,4	35,5	26,0
TOTAL 16 HPAs	648	318	438	573
TOTAL HPAs	1618	526	1660	2306
Recuperação (%)	89,29	84,41	91,45	89,16
2,6 + 3,5 C2Fen	7,5	2,0	9,0	23,6
1,7 C2Fen	20,0	7,0	12,9	37,2

Legenda:

N: Naftaleno; 2MN: 2Metilnaftaleno; 1MN: 1Metilnaftaleno; C2N: C2 naftalenos; C3N: C3 naftalenos; C4N: C4 naftalenos; Ace: Acenafteno; Aceft: Acenaftileno; Flu: Fluoreno; C1Flu: C1 fluorenos; C2Flu: C2 fluorenos; C3Flu: C3 fluorenos; DBT: Dibenzotiofeno; C1DBT: C1 dibenzotiofenos; C2DBT: C2 dibenzotiofenos; C3DBT: C3 dibenzotiofenos; Fen: Fenantreno; C1Fen: C1 fenantrenos; C2Fen: C2 fenantrenos; C3Fen: C3 fenantrenos; C4Fen: C4 fenantrenos; Ant: Antraceno; Ft: Fluoranteno; Pi: Pireno; C1Pi: C1 pirenos; C2Pi: C2 pirenos; BaA: Benzo(a)antraceno; Cri: Criseno; C1Cri: C1 crisenos; C2Cri: C2 crisenos; BbFt: Benzo(b)fluoranteno; BkFt: benzo(k)fluoranteno; BaPi: Benzo(a)pireno; Per: Perileno I-Pi: Indeno(1,2,3-cd)pireno; DbahA: Dibenzo(a,h)antraceno; BghiPe: Benzo(ghi)perileno. nd = não detectado; Limite de quantificação = 0,3 ng g⁻¹; Recuperação (%) do padrão subrogado p-terfenil-d₁₄.

ANEXO O. Valores orientadores de concentrações de HPAs em sedimentos (marinhos e de água doce) e na coluna d'água (água doce e marinha) nos EUA (NOAA Squirts – <http://response.restoration.noaa.gov/2006>).

Composto	Sedimento de Água Doce (ng g ⁻¹)			Sedimento de Água Marinha (ng g ⁻¹)				Água Marinha (µg L ⁻¹)
	Nível limite de efeito (TEL) ¹	Nível de efeito provável (PEL)	Limite superior de efeitos (UET)	Nível limite de efeito (TEL)	Faixa de efeitos baixos (ERL)	Limite aparente de efeitos (AET)	Nível provável de efeitos (PEL)	Critério de concentração máxima CMC
Acenafteno	-	-	290	6,71	16	130	88,9	970
Acenaftileno	-	-	160	5,87	44	71	127,87	300
Antraceno	10	-	260	46,85	85,3	280	245	300
Benzo(k)fluoranteno	27,2	-	13400	-	-	1800	-	300
Benzo(a)pireno	32,4	782	700	88,81	430	1100	763,22	300
Benzo(b)fluoranteno	-	-	-	-	-	1800	-	300
Benzo(ghi)perileno	-	-	300	-	-	670	-	300
Benzo(a)antraceno	15,72	385	500	74,83	261	960	692,53	300
Criseno	26,83	862	800	107,77	384	950	845,98	300
Dibenzo(a,h)antraceno	10	-	100	6,22	63,4	230	134,61	300
Fluoranteno	31,46	-	1500	112,82	600	1300	1493,54	40
Fluoreno	10	2355	300	21,17	19	120	144,35	300
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	17,32	-	330	-	-	600	-	300
Metilnaftaleno	-	-	-	20,21	70	64	201,28	300
Naftaleno	14,65	-	600	34,57	160	230	390,64	2350
Fenantreno	18,73	515	800	86,68	240	660	543,53	7,7
Pireno	44,27	875	1000	152,66	665	2400	1397,6	300
HPA Total	264,05	-	12000	1684,06	4022	-	16770,4	300

- TEL: representa a concentração abaixo da qual efeitos adversos são esperados apenas raramente
- PEL: representa o nível acima do qual espera-se que efeitos adversos ocorram frequentemente
- ERL: representa a concentração na qual a toxicidade pode começar a ser observada em espécies sensíveis
- UET: representa a concentração acima da qual espera-se que sempre ocorra impacto biológico adverso no ambiente de água doce
- AET: representa a concentração acima da qual espera-se que sempre ocorra impacto biológico adverso no ambiente marinho
- CMC: critério de concentração máxima, é o maior nível para uma exposição média de 1 hora e não deve exceder mais do que uma vez a cada três anos, e é um sinônimo para agudo.
- 1- *Hyalomma azteca* bioassay