



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM DINÂMICA DOS OCEANOS E DA TERRA



PATRÍCIA FARIAS DE SOUZA

Avaliação da concentração de elementos traço e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em ostras *Crassostrea rhizophorae* e mexilhões *Perna perna* e suas interações ambientais no sistema estuarino de Santos, São Paulo

Niterói, RJ

2021

PATRÍCIA FARIAS DE SOUZA

Avaliação da concentração de elementos traço e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em ostras *Crassostrea rhizophorae* e mexilhões *Perna perna* e suas interações ambientais no sistema estuarino de Santos, São Paulo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biogeoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Estefan Monteiro da Fonseca

Co-orientadora: Dr^a Danieli Lima da Cunha

Niterói, RJ

2021

PATRÍCIA FARIAS DE SOUZA

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO E
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) EM
OSTRAS *Crassostrea rhizophorae* E MEXILHÕES *Perna perna* E SUAS
INTERAÇÕES AMBIENTAIS NO SISTEMA ESTUARINO DE SANTOS,
SÃO PAULO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra
da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Biogeoquímica.

Aprovada em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Estefan Monteiro da Fonseca (Orientador)
Departamento de Geologia e Geofísica Marinha - UFF

Dr.^a Danieli Lima da Cunha (Co-orientadora)
Departamento de Geologia e Geofísica Marinha - UFF

Prof. Dr. José Antônio Baptista Neto
Departamento de Geologia e Geofísica Marinha - UFF

Prof.^a Dr.^a Sarah Dario Alves Daflon
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

Ficha catalográfica automática - SDC/BIG
Gerada com informações fornecidas pelo autor

S719a Souza, Patrícia Farias
Avaliação da concentração de elementos traço e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em ostras *Crassostrea rhizophorae* e mexilhões *Perna perna* e suas interações ambientais no sistema estuarino de Santos, São Paulo : Avaliação da concentração de elementos traço e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em ostras *Crassostrea rhizophorae* e mexilhões *Perna perna* e suas interações ambientais no sistema estuarino de Santos, São Paulo / Patrícia Farias Souza ; Estefan Fonseca, orientador ; Danieli Cunha, coorientadora. Niterói, 2021.
130 f. : il.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2021.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22409/PPGDOT.2021.m.05258269710>

1. Biomonitoramento. 2. Moluscos bivalves. 3. Elementos traço. 4. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos - HPAs. 5. Produção intelectual. I. Fonseca, Estefan, orientador. II. Cunha, Danieli, coorientadora. III. Universidade Federal Fluminense. Instituto de Geociências. IV. Título.

Bibliotecário responsável: Debora do Nascimento - CRB7/6368

DEDICATÓRIA

Com gratidão, dedico este trabalho a Deus, devo a Ele tudo o que sou. E à minha mãe, pois está sempre presente, me apoiando em todos os momentos da minha vida – sua presença durante esta jornada tornou tudo mais fácil. Gratidão eterna!

Dedico também ao Professor e amigo Estefan por ser uma constante fonte de motivação e incentivo ao longo de todo o projeto. Muito obrigada! E a Danieli Cunha, que foi meu apoio, meu porto seguro nesta trajetória que resolvi explorar, mesmo sem conhecer o caminho aonde iria chegar.

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento vai primeiramente ao meu orientador Estefan Monteiro da Fonseca, pela oportunidade, motivação e incentivo a mim ofertados para iniciar um novo desafio de voltar para à sala de aula, pelas orientações, direções, puxões de orelha e paciência em me orientar.

A co-orientadora Danieli Cunha que foi excelente, prestativa, paciente e atenciosa comigo nas revisões e, no momento mais difícil da dissertação, foi um anjo em minha vida que nunca me esquecerei de sua existência.

A Alcinei Machado, Adriana Netto, e Leonardo Lima, que estavam presentes comigo no trabalho de campo. Sem a ajuda de vocês, meus amigos de trabalho e da vida, não seria possível realizar a coleta dos organismos e os registros da pesquisa. Gratidão aos três pela dedicação empenhada para o sucesso deste estudo.

Ao Paulo Henrique que organizou toda logística para Santos e a Jessica Delgado pelas orientações iniciais. Ao Khauê Vieira pela ajuda na revisão, paciência, compreensão, dicas, conselhos e orientações sobre a dissertação e na metodologia de como armazenar os organismos até a chegada a instituição da Universidade Federal Fluminense.

Ao projeto de Plano Nacional de Dragagem 2 (PND2), de responsabilidade da antiga Secretaria Especial de Portos (SEO), e a Universidade Federal Fluminense (UFF), pela oportunidade de fazer o trabalho de campo para que essa pesquisa pudesse ser realizada, sem eles não seria possível o desenvolvimento da mesma.

E a todos os demais que direta e indiretamente, contribuíram para minha formação acadêmica.

Gratidão!!!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou
o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o
que era antes”.

(Martin Luther King)

RESUMO

Diversos compostos químicos possuem o potencial de impactar negativamente todo um ecossistema, representando uma ameaça à fauna e flora local. Nesse contexto, os elementos traço e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são contaminantes muito estudados pela comunidade científica, uma vez que são potencialmente tóxicos para diferentes organismos, mesmo em baixas concentrações, e além disso, podem bioacumular e biomagnificar ao longo da cadeia trófica. Uma vez classificados como filtradores, os moluscos bivalves tem um importante papel na dinâmica de poluentes no ambiente aquático, pois possuem a capacidade de acumular partículas orgânicas e inorgânicas em seus tecidos, logo podem ser utilizados como relevante ferramenta de biomonitoramento. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar as concentrações de elementos traço e HPAs em duas espécies de moluscos bivalves (*Perna perna* e *Crassostrea rhizophorae*), presentes no sistema estuarino de Santos. De acordo com os dados obtidos, os mexilhões *Perna perna* apresentaram maiores concentrações de alguns elementos traço (Ni e Fe) e HPAs com relação às ostras *Crassostrea rhizophorae*. Por outro lado, para os elementos Cd, Zn, Cu as ostras apresentaram maior capacidade de retenção dos mesmos. Tomando com base a Instrução Normativa nº 88/2021 da Agência Nacional de Saúde (ANVISA), que estabelece limites máximos toleráveis de contaminantes em moluscos bivalves comestíveis, foram observadas altas concentrações de As para ambas as espécies, e de Pb e Cr para mexilhões. Em face desta observação de ordem normativa e considerando demais referências de biotoxicidade, o presente estudo sugere que os tais bivalves presentes no sistema estuarino de Santos, são impróprios para consumo humano.

Palavras-chave: biomonitoramento, moluscos bivalves, elementos traço, HPAs

ABSTRACT

Several chemical compounds have the potential to negatively impact an entire ecosystem, posing a threat to local fauna and flora. In this context, trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are contaminants that have been widely studied by the scientific community, as they are potentially toxic to different organisms, even at low dev, and in addition, they can bioaccumulate and biomagnify along the food chain. Once classified as filter feeders, bivalve molluscs play an important role in the dynamics of pollutants in the aquatic environment, as they have a capacity for organic and inorganic particles in their tissues, so they can be used as a relevant tool for biomonitoring. In this context, the present study aimed to evaluate the trace tools and PAHs in two species of bivalve molluscs (*Perna perna* and *Crassostrea rhizophorae*), present in the Santos estuarine system. According to the data obtained, the *Perna perna* base mussels required larger trace elements (Ni and Fe) and PAHs compared to *Crassostrea rhizophorae* oysters. On the other hand, for the elements Cd, Zn, Cu, as oysters, they have greater retention capacity. Based on Normative Instruction No. 88/2021 of the National Health Agency (ANVISA), that maximum tolerable limits of contaminants in edible bivalve molluscs were observed, high As for both species, and for Pb and Cr for mussels were observed. In view of this observation of a normative nature and considering other references of biotoxicity, the present study shows that such bivalves present in the Santos estuarine system are necessary for human consumption.

Keywords: biomonitoring, bivalve molluscs, trace elements, PAHs

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mexilhão da espécie <i>Perna perna</i>	23
Figura 2 - Ostras da espécie <i>Crassostrea rhizophorae</i>	24
Figura 3 - Anatomia da ostra.	26
Figura 4 - Anatomia do mexilhão.....	27
Figura 5 - Sistema estuarino de Santos (SP, Brasil) e pontos de amostragem.	31
Figura 6 - (a) Coleta de mexilhões <i>Perna perna</i> ; (b) Coleta de ostras <i>Crassostrea rhizophorae</i>	33
Figura 7 - (a) Recipiente inox utilizado para abertura dos moluscos bivalves; (b) Extração do tecido mole da ostra com auxílio de uma espátula inox.	35
Figura 8 - Armazenamento das amostras para análise de elementos traço e HPAs.	36
Figura 9 - (a) Sonda multiparâmetros Horiba U10; (b) Análise da transparência da água pelo disco de Secchi.	37
Figura 10 - Variação da salinidade (‰) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.....	39
Figura 11 - Sólidos totais dissolvidos (g/L) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.....	40
Figura 12 - Oxigênio dissolvido (mg/L) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.....	41
Figura 13 - Temperatura (°C) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.	42
Figura 14 - Potencial hidrogeniônico (pH) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.....	43
Figura 15 - Transparência da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), através do disco de Secchi.	43
Figura 16 - Concentrações de elementos traço (mg/Kg - peso seco) bioacumulados em ostras <i>Crassostrea rhizophorae</i> e em mexilhões <i>Perna perna</i> no sistema estuarino de Santos (SP-Brasil).	48
Figura 17 - Variação dos níveis de HPAs (µg/Kg) em amostras de mexilhão <i>Perna perna</i> e ostras <i>Crassostrea rhizophorae</i> no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil).	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos pontos de coleta de ostras (<i>Crassostrea rhizophorae</i>) e mexilhões (<i>Perna perna</i>) no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil).....	34
Tabela 2 - Concentrações média (mínima – máxima) de elementos traço (mg/kg - peso seco) determinadas em moluscos bivalves no sistema estuarino de Santos (SP- Brasil), em comparação com valores da literatura e com a legislação brasileira (Brasil, 2021).....	45
Tabela 3 - Limites máximos aceitáveis de Cu e Zn (mg/Kg) em animais marinhos por órgãos internacionais.....	46
Tabela 4 - Ingestão tolerável provisória de Cu e Zn (mg/Kg, peso corporal).	46
Tabela 5 - Concentrações de HPAs (ug/kg, peso seco) determinadas no tecido mole de moluscos bivalves, coletados em diferentes áreas costeiras do mundo.....	52
Tabela 6 - Correlação entre parâmetros em mexilhões <i>Perna perna</i>	53
Tabela 7 - Correlação entre parâmetros em ostras <i>Crassostrea rhizophorae</i>	53
Tabela 8 - Correlação entre os elementos traço e HPAs observadas em mexilhões <i>Perna perna</i>	55
Tabela 9 - Correlação entre os elementos traço e HPAs observadas em ostras <i>Crassostrea rhizophorae</i>	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag – Prata

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

As – Arsênio

Cd – Cádmio

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CG-EM – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

Cr – Cromo

Co - Cobalto

Cu – Cobre

Fe – Ferro

Hg – Mercúrio

HPAs – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

IARC - *International Agency for Research on Câncer* - Agência Internacional para Pesquisa do Câncer

LD – Limite de detecção

MT - Metalotioneína

Ni – Níquel

OMS - Organização Mundial da Saúde

Pb – Chumbo

PND2 - Plano Nacional de Dragagem 2

Se - Selênio

SEP - Secretaria Especial de Portos

SIM - *Select Ion Monitoring* - monitoramento do íon selecionado

SP – São Paulo

UFF – Universidade Federal Fluminense

Unifesp - Universidade Federal de São Paulo

US EPA - Agência de Proteção Ambiental Americana - EUA

Zn – Zinco

APRESENTAÇÃO

O presente estudo faz parte do projeto de execução do Plano Nacional de Dragagem 2 (PND2), de responsabilidade da antiga Secretaria Especial de Portos (SEP), órgão este do Governo Federal. A Universidade Federal Fluminense (UFF) ficou responsável pelo monitoramento ambiental da dragagem e foi dentro deste contexto que essa dissertação foi desenvolvida.

Esta pesquisa foi baseada na literatura e em experimentos científicos, com trabalho de campo e análise laboratorial. Teve como principal objetivo avaliar as concentrações de elementos traço e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em duas espécies de moluscos presentes no sistema estuarino de Santos. A mesma possui um item introdutório, onde são apresentados os tópicos gerais do estudo, de forma a munir o leitor sobre informações básicas a respeito da temática abordada e assim facilitar a compreensão. Posteriormente, foi discorrido sobre os elementos traço e HPAs e suas potenciais fontes de contaminação e seus potenciais efeitos causados no ambiente. Em seguida, foi apresentado um tópico sobre os moluscos bivalves, com foco nos seus hábitos e concentração de poluentes.

O sistema estuarino de Santos foi escolhido como área de estudo, por ser uma região de grande importância social e econômica, sendo muito utilizado para prática de pesca que colabora para alimentação da população local e localidades vizinhas. A metodologia utilizada foi adequada para atender o objetivo do estudo e a bibliografia utilizada foi de autores renomados que possuem a mesma linha de interesse da pesquisa.

1 INTRODUÇÃO

Os ambientes marinhos possuem uma enorme biodiversidade, com papel importante em relação aos ciclos de nutrientes do planeta, com a devida função em destaque da produção de oxigênio, o consumo de carbono e a regulação climática (SANTOS, 2002). Os estuários e baías se encontram entre os ecossistemas marinhos mais importantes, tanto em termos de produtividade biológica, quanto para o desenvolvimento das atividades humanas (FERREIRA et al., 2020; HOSSAIN et al., 2018; BARLETTA et al., 2019; KHAN et al., 2014). Porém, por serem considerados sistemas semifechados, onde ocorrem interações dinâmicas entre a água doce da drenagem continental e a água do mar, são ambientes extremamente vulneráveis aos impactos de diferentes poluentes de origem antrópica (DAY JR. et al., 1987).

A contaminação dos ecossistemas costeiros tem se tornado uma questão crítica em todo o mundo, e cada vez mais se agrava devido ao contínuo crescimento populacional, associado à expansão descontrolada da industrialização, próxima a estes locais. Além disso, o descaso com o descarte de efluentes industriais, urbanos e agrícolas, e a falta de planejamento adequado dos recursos, refletem na má qualidade da água, colocando em risco os ecossistemas presentes (SCHAEFFER-NOVELLI, 1989).

Quantidades elevadas de contaminantes orgânicos e inorgânicos como: organoclorados, pesticidas, plastificantes, elementos traço, fármacos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), entre outros, são introduzidas em ambientes estuarinos por diversas fontes (pontuais e difusas), gerando grande preocupação na comunidade científica e em ambientalistas (FONSECA et al., 2014; SANTOS, 2002). Estes contaminantes estão presentes em diferentes matrizes, e mesmo em baixíssimas concentrações, representa um significativo risco à biota aquática (SHEIK et al., 2012). Além disso, podem ser estáveis e persistentes no ambiente, uma vez que não podem ser degradados ou destruídos, que é o caso dos elementos traço (SIEGEL, 2002).

Alguns desses contaminantes possuem ainda a capacidade de entrar nas cadeias alimentares e ser bioacumulados (quando são absorvidos pelos organismos) e/ou biomagnificados (quando acontece o acúmulo progressivo do contaminante ao longo da cadeia trófica), afetando de forma prejudicial diferentes organismos e à saúde humana, que consomem estes organismos contaminados (SINGH et al., 2011; CHAPMAN et al., 1998; PAN & WANG, 2002).

A maioria dos moluscos bivalves é responsável por parte da dinâmica de poluentes no ambiente aquático devido a sua característica filtradora de alimentação, absorvendo e retendo

partículas. Essa capacidade de concentrar contaminantes, em níveis mais elevados do que na água, em várias ordens de grandeza, e sobreviver em ambientes contaminados, faz com que estes sejam utilizados como biomonitores e bioindicadores de qualidade ambiental (RAINBOW, 1995).

Assim, os estudos sobre a dinâmica de contaminação de espécies em ambientes potencialmente poluídos são de grande importância, pois contribuem de forma significativa para o entendimento de sua biologia, manejo e os perigos que essas espécies podem representar para o consumo humano (BAPTISTA-NETO et al., 2008).

Neste contexto, com a finalidade de compreender a biodisponibilidade destes contaminantes, o presente estudo objetiva principalmente, avaliar as concentrações de elementos traço e HPAs em duas espécies de moluscos bivalves marinhos, *Perna perna* (mexilhão comum) e *Crassostrea rhizophorae* (ostra-do-mangue) presentes no Sistema Estuarino de Santos, São Paulo, Brasil. Esta região vem sofrendo significativas pressões ambientais como reflexo de um intenso e crescente processo de industrialização, sendo muito exposta à poluição. As principais fontes de poluição estão relacionadas às atividades do parque industrial de Cubatão, assim como às disposições irregulares de resíduos industriais, às dragagens do canal do porto, às atividades portuárias, ao emissário submarino, além das descargas de esgotos domésticos clandestinos e aos aterros sanitários irregulares (HORTELLANI et al., 2008).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 POLUIÇÃO DO SISTEMA ESTUARINO DE SANTOS

Os estuários são sistemas complexos e extremamente dinâmicos devido aos expressivos gradientes de propriedades físico-químicas da água, variações nos materiais em suspensões, inúmeros processos hidrodinâmicos controlados pelas marés, ventos e ondas, além do encontro das massas de águas doces e salgadas (BAPTISTA-NETO et al., 2008). São ambientes explorados antropicamente por serem áreas abrigadas, sendo áreas propícias ao aglomerado urbano, o que favorece a instalação de portos e indústrias, exploração econômica de pesca, dentre outros (SALGADO-RAMÍREZ et al., 2017).

O sistema estuarino de Santos tem capacidade de renovar periodicamente e sistematicamente suas águas, sob a influência da maré e da descarga de água doce dos corpos hídricos oriundos da Serra do Mar. Por outro lado, este equilíbrio dinâmico pode ser comprometido, uma vez que a forma e a extensão deste estuário têm sido alteradas por processos erosivos e deposição de sedimentos oriundos da região serrana, além de sofrerem efeitos relacionados às marés (SILVA & GOMES, 2012).

Com o crescimento das atividades industriais e portuárias, sem nenhum controle ambiental, obteve-se um alto potencial poluidor, o qual fez o sistema estuarino de Santos e região, se tornarem um grande receptor de resíduos tóxicos e efluentes contaminados por diversos tipos de poluentes (LAMPARELLI et al., 2001). Segundo Davis e MacKnight (1990), as principais possíveis fontes dessa poluição no meio ambiente marinho e costeiro, levando em conta as regiões portuárias, podem ser: a geração de resíduos sólidos, efluentes e emissões atmosféricas dos navios que entram e saem do porto; a dragagem do canal de acesso; os reparos e manutenção dos navios no porto; e, a instalação de complexos industriais na zona portuária. Além disso, também é importante considerar: erosão e assoreamento localizados; introdução de espécies exóticas; substâncias nocivas e perigosas; derramamento de óleo; poeira e material particulado; e ruídos (AAPA, 1998).

Nesse contexto, em 1988, com o intuito de controlar a poluição nos estuários e melhorar a qualidade ambiental, a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) realizou um levantamento da contaminação nos rios Cubatão, Perequê, Piaçaguera e Casqueiro, na região do estuário de Santos. O estudo realizou um levantamento sistemático sobre a contaminação ambiental na região da Baixada Santista, que indicou riscos de acumulação dos contaminantes nos organismos que estariam retornando ao ambiente em recuperação, o que implica numa maior exposição da população ribeirinha ao consumo de pescados

comprometidos pela poluição. Após a implantação do levantamento de controle da poluição, foi possível observar claramente que a região estava impactada por concentrações elevadas de elementos traço e compostos organoclorados na água, nos sedimentos e nos organismos aquáticos (CETESB, 1990; EYSINK et al., 1991).

Nos anos noventa, ocorreu a continuidade de implantação e aperfeiçoamento dos sistemas de controle da poluição das águas e do solo na região que é cercada por indústrias, onde algumas dessas introduziram sistemas para recirculação total ou parcial de seus efluentes. Já em locais contaminados por HPAs e resíduos de organoclorados, foram implantados sistemas de coleta e tratamento de águas subterrâneas com a finalidade de reduzir a contaminação do solo, ocorrendo uma melhora na qualidade da água. Posteriormente, os manguezais contaminados foram analisados para identificar se poderiam ser passíveis de recuperação. Em 1993, foi realizado um estudo, em Cubatão, com plantio utilizando propágulos e plântulas de mangue, que indicou uma alta taxa de sobrevivência (cerca de 80%) e demonstrou a possibilidade de recuperação dos manguezais (MENEZES et al., 1994; EYSENCK & DERAKSHAN, 1997). Esse projeto de recuperação demonstrou que o quadro de contaminação é passível de ser revertido (POFFO et al., 1998).

Atualmente essa região passa por um processo de monitoramento pelos órgãos responsáveis e pela comunidade científica devido ao agravamento da poluição. A contaminação por diferentes contaminantes, como elementos traço, organoclorados e HPAs, deve-se, sobretudo, à atividade industrial de Cubatão e da atividade portuária em si (SILVA & GOMES, 2012). Essa degradação do estuário de Santos trouxe como consequência a diminuição e/ou desaparecimento de algumas espécies marinhas de interesse comercial como peixes, crustáceos e moluscos, provocando a mudança dos hábitos culturais da pesca artesanal na região. Além de colocar em risco a saúde da população, que consome organismos contaminados.

2.2 CONTAMINAÇÃO POR ELEMENTOS TRAÇO

Amplamente distribuídos pela crosta terrestre, os elementos traço são elementos químicos que estão inseridos em ciclos geológicos e biológicos. Alguns são essenciais para a sobrevivência dos seres vivos, desde que em baixas concentrações, e são conhecidos como micronutrientes, entre eles estão cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe). Esses são elementos que possuem um importante papel no metabolismo dos organismos, uma vez que contribuem nos processos fisiológicos. O Cu, por exemplo, é responsável pela cadeia

respiratória, o Mn pela fotossíntese, fazendo parte dos citocromos, o Zn tem importância estrutural sobre as enzimas e proteínas denominadas metaloenzimas, e o Fe auxilia no transporte de oxigênio no sangue (LAMPARELLI et al., 2001; BAPTISTA-NETO et al., 2008). Contudo, esses elementos supracitados, bem como o níquel (Ni), cobalto (Co) e o selênio (Se), quando presentes em concentrações elevadas são tóxicos. Como a atividade humana alterou a forma de distribuição e disponibilidade de certos elementos no ambiente, elementos outrora não identificados como de grande relevância nas dinâmicas naturais – como mercúrio (Hg), cádmio (Cd) e chumbo (Pb), altamente tóxicos mesmo em concentrações muito baixas – passaram a receber maior atenção de ponto de vista ecotoxicológico (GONTIJO et al., 2017). A taxa de absorção e a bioacumulação dos elementos traço é variável, pois depende do organismo, da sua dieta, do seu estado nutricional e, principalmente, da especiação do elemento químico presente no meio (MARCHI et al., 2009).

A preocupação de analisar essa classe de contaminantes se intensificou a partir daquele considerado um dos principais desastres de origem antrópica em ambientes costeiros. O mesmo ocorreu na Baía de Minamata no Japão em decorrência do lançamento contínuo de efluentes industriais tóxicos, entre os anos de 1932 e 1968, na qual toda uma geração desenvolveu sintomas neurológicos e efeitos teratogênicos (HARADA, 1995; FERREIRA et al., 2013). O despejo indiscriminado de metil-mercúrio (MeHg), durante o período de mais de 30 anos foi a principal causa da morte de aproximadamente 8.000 pessoas (Ross & Moroz, 2011). Mesmo após a interrupção de seu lançamento, a substância ainda permaneceu no ambiente por mais de 40 anos, principalmente devido à associação do MeHg com partículas de sedimentos (BAPTISTA-NETO et al., 2008).

No ambiente aquático a introdução de origem antrópica de elementos traço pode se dar através de efluentes industriais e urbanos, remobilização sedimentar, escoamento superficial de áreas agrícolas e urbanas, disposição de material dragado, dentre outros (LACERDA et al., 1994). Uma vez no meio hídrico, os elementos traço podem se apresentar no material particulado ou dissolvido. No material particulado podem estar agregados a partículas orgânicas e inorgânicas, ou na composição de minerais. Já no material dissolvido podem se apresentar como íons livres hidratados, formando complexos iônicos, ou complexos com moléculas orgânicas (PEREIRA & SOARES, 2002).

Processos como dessorção e dissolução de contaminantes encontrados em partículas em suspensão e ressuspensão dos sedimentos, afetam também os níveis de elementos traço no meio hídrico (HIERRO et al., 2014). Segundo Benoit e colaboradores (1994), elevadas

concentrações de tais contaminantes na coluna d'água podem estar diretamente associadas a suas frações liberadas do sedimento pelos processos citados.

Entender e conhecer o comportamento geoquímico estuarino, que pode favorecer a absorção ou a liberação pela fase sólida dos sedimentos para as águas costeiras, permite identificar estratégias ambientais, para uma abordagem mais equilibrada desses ecossistemas (WANILSON et al., 2006; DE JESUS, 2019).

2.3 CONTAMINAÇÃO POR HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs)

Presentes em ambientes aquáticos, os HPAs são contaminantes que surgiram através da industrialização, crescimento e desenvolvimento da atividade humana sucedidos nos dois últimos séculos. São oriundos da combustão incompleta de combustível fóssil e biomassa, de vazamentos de petróleo bruto e seus derivados, lavagem dos tanques de embarcações, rompimento de dutos e despejo crônico de instalações para armazenamento e refinarias (GESAMP, 2007). Estudos apontam que o *runoff* urbano também contribui para a entrada desses contaminantes no meio hídrico (GESAMP, 1993; LAWS, 2000). Estima-se, que a média anual da entrada de óleo no ambiente marinho, considerando somente as atividades marítimas e navios que nele trafegam (como a exploração *offshore* e escapes naturais), seja de 1.245.200 toneladas de despejo de óleo por ano, entre os anos 1988 e 1997 (GESAMP, 2007).

Assim como os elementos traço, os hidrocarbonetos também compõem uma classe de contaminantes que representa danos à saúde humana devido à tendência em bioacumular e biomagnificar, com potenciais efeitos mutagênicos e carcinogênicos (YOSHIMINE & CAREIRA, 2012; LOURENÇO et al., 2019). Além disso, são compostos lipossolúveis e considerados persistentes no ambiente (NEFF, 2001).

Na matriz aquática, devido à baixa solubilidade em água, os HPAs tendem a se aglutinarem em partículas orgânicas e inorgânicas em suspensão, e posteriormente, são depositados no sedimento. A absorção dos HPAs na biota pelos organismos bivalves filtradores pode ocorrer na fase dissolvida ou na fase particulada, presentes na coluna d'água, pelas superfícies branquiais ou através da sua alimentação (LOURENÇO et al., 2019).

Devido a crescente preocupação com a saúde pública, há diversas pesquisas voltadas para monitorar a contaminação pelos HPAs, em estuários e arredores, através de diferentes

organismos que são utilizados para o consumo humano (EL NEMR et al., 2016; EL NEMR et al., 2012a; EL NEMR et al., 2012; JIA et al., 2010).

Os principais bioindicadores empregados para o monitoramento de HPAs são os mexilhões e as ostras, do Filo Mollusca. Sua utilização não só é indicada para verificar a contaminação por HPAs, estes organismos também são muito utilizados para análises de elementos traço e compostos organoclorados, como ocorre no programa *Mussel Watch* que monitora a presença desses contaminantes na costa leste e oeste dos Estados Unidos e nos Grandes Lagos, região localizada entre o Canadá e os Estados Unidos (KIMBROUGH et al., 2008).

Estes bioindicadores apresentam maior capacidade em acumular os hidrocarbonetos, sem causar danos letais aos organismos testes, uma vez que permanecem vivos mesmo com acúmulo elevado desses contaminantes, permitindo assim mostrar qual o nível de poluição que o ambiente se encontra (BEEBY, 2001).

2.4 MOLUSCOS BIVALVES

Em regiões estuarinas, dependendo do nível trófico, os organismos marinhos podem acumular contaminantes em maior ou menor proporção. Alguns são migradores e não são preferencialmente utilizados como bioindicadores, por não demonstrar um bom controle da área contaminada (GONÇALVES et al., 2007). Outros, como os moluscos bivalves são excelentes indicadores de poluição, pois possuem a capacidade de incorporar diferentes tipos de compostos tóxicos, uma vez que absorvem estes contaminantes constantemente no meio ambiente (CHANDURVELAN et al., 2012; FARRINGTON et al., 2016).

Estes organismos têm sido utilizados por décadas como sentinelas em áreas costeiras e ecossistema estuarinos, devido à sua abundância, ampla distribuição, suas particularidades fisiológicas como sua natureza sésil e condições de alimentação (DIOP et al., 2016; CHANDURVELAN et al., 2013). Outras características particulares desses moluscos bivalves incluem, vida suficientemente longa, tolerância e adaptabilidade, além de possuir tamanho razoável para fornecer tecido suficiente para análise (O'CONNOR, 1992). Algumas espécies dessa classe possuem a capacidade de refletir e mostrar resultados em condições ambientais negativas, como níveis anômalos de poluição por elementos traço e hidrocarbonetos, estimulando um comportamento de estresse fisiológico que muda o metabolismo e redistribui

a energia anabólica na reparação do estresse que, por sua vez, induz dano molecular devido à alta contaminação nos organismos (PYTHAROPOULOU et al., 2013).

Determinar as concentrações dos contaminantes na biota aquática proporciona o conhecimento da biodisponibilidade de contaminantes nos diferentes ecossistemas, e permite avaliar os potenciais riscos à população que está exposta a esses contaminantes através da alimentação. Portanto, o monitoramento ambiental com base em resultados ecotoxicológicos se torna extremamente importante, uma vez que as atividades de malacocultura (cultivo de mexilhões, ostras e vieiras) vêm crescendo no Brasil (GALVÃO et al., 2009; BARAJ et al., 2003).

Grande parte da população brasileira que vive em regiões costeiras consome esses organismos bivalves. As principais espécies de moluscos cultivadas compreendem: o mexilhão *Perna perna* e a vieira *Nodipecten nodosus*, ambos cultivados nas regiões Sul e Sudeste do país; a ostra japonesa (*Crassostrea gigas*), cultivada nas regiões Sul e Sudeste, principalmente no estado de Santa Catarina; a ostra nativa (*Crassostrea brasiliana*) e a ostra-do-mangue (*Crassostrea rhizophorae*), cultivadas nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste (EPAGRI, 2006).

O mexilhão *Perna perna* é do filo Mollusca, da classe Bivalvia, ordem Mytiloidea e da família Mytilidae (Figura 1). Segundo Resgalla Jr. e Salomão (2004), seu cultivo é conhecido como mitilicultura, provavelmente oriundo do nome de sua família. É a espécie de mexilhão mais cultivado e mais abundante da costa brasileira, principalmente no litoral do Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina. Poucas citações comentam sobre a presença do molusco no litoral Norte e Nordeste. É uma das espécies de mitilídeo de maior interesse comercial principalmente para o consumo humano. Cresce relativamente rápido podendo alcançar 17 cm de comprimento, e tem elevada taxa de produção, além disso, é bastante nutritivo e uma importante fonte de proteína (ABESSA et al., 2005; FERREIRA et al., 2013).

Mesmo com diversos estudos sobre os mexilhões *Perna perna*, não foi possível estabelecer precisamente sua origem, sendo considerado uma espécie nativa (MANZONI, 2005). Estão presentes em regiões com forte hidrodinamismo, seu habitat possui densas colônias de moluscos nas zonas entremarés e infralitoral podendo chegar a profundidades de aproximadamente 20 metros (ABESSA et al., 2005; SEMMLER, 2007).

A faixa ideal de salinidade para o desenvolvimento destes mexilhões é de 34 a 36‰, entretanto estes organismos se destacam por conseguir sobreviver em locais com baixa ou elevada salinidade. A faixa de temperatura ideal é entre 21 e 28°C, porém os mexilhões conseguem suportar temperaturas mais elevadas sendo, portanto, considerados euritérmicos e eurialinos (FERREIRA & MAGALHÃES, 2004).

Figura 1 – Mexilhão da espécie *Perna perna*.

Fonte: klimanaturali.org

As ostras da espécie *Crassostrea rhizophorae*, também pertencem ao mesmo filo e classe do mexilhão *Perna perna*, entretanto se diferenciam na ordem (Ostreoida) e família (Ostreoidae). Segundo Amaral (2010), o gênero *Crassostrea* ocorre na costa da América do Sul. A ostra-do-mangue, da espécie *Crassostrea rhizophorae* (Figura 2), como o próprio nome sugere, ocorre principalmente em regiões de manguezal, em enseadas, baías e estuários, formando bancos em zonas entre marés e no ambiente infralitoral, fixando-se em rochas, raízes e substratos consolidados (RIOS, 2014). Se adaptam bem a temperatura entre 11 e 25°C e salinidade ideal para a espécie e seu desenvolvimento pode variar de 14 a 35‰, sendo para o cultivo a faixa de salinidade indicada é em torno de 15‰ (RAMOS, 2016; VIEIRA et al., 2021).

Figura 2 - Ostras da espécie *Crassostrea rhizophorae*.

Fonte: mundoecologia.com.br

No Brasil, o estado de Santa Catarina detém da maior parte da produção nacional. Na ostreicultura, a maioria das ostras cultivadas pertence principalmente aos gêneros *Ostrea* e *Crassostrea* (POLI, 2004). As ostras *Crassostrea* normalmente têm com maior potencial para a maricultura na costa brasileira, tanto em nível de estabilidade como no âmbito comercial (PEREIRA et al., 2003; NASCIMENTO & PEREIRA, 2004). As espécies *C. rhizophorae* se apresenta em menor proporção de cultivo do que as *C. gigas*, que correspondem a maior proporção de cultivo de moluscos produzidos no Brasil (EPAGRI, 2006).

Tanto a ostreicultura quanto a mitilicultura vem despertando o interesse de pescadores artesanais, sendo uma alternativa de subsistência, como também de pessoas que buscam o desenvolvimento sócio-econômico. No entanto, a falta de informações sobre as potenciais áreas de cultivo, sobre o comportamento reprodutivo, recrutamento e técnicas de engorda, levam muitas vezes à inviabilidade do cultivo desses bivalves, dificultando maiores investimentos, tanto por parte das instituições fomentadoras como por parte dos possíveis produtores. Portanto, é de grande importância obter informações biológicas e ecológicas, para que o cultivo desses organismos se torne um atrativo econômico para as comunidades da região, uma vez que a mesmo demanda ambientes conservados e despoluídos para desenvolver-se com sustentabilidade (FREITAS, 2006).

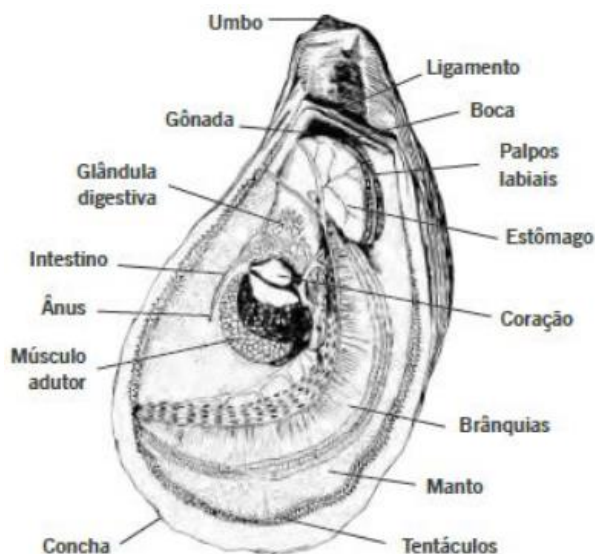
2.4.1 Hábitos dos Moluscos Bivalves

Tanto a respiração das ostras e dos mexilhões, quanto a sua alimentação ocorrem através do batimento dos cílios branquiais, que gera uma corrente através do seu corpo (FURLAN, 2004). Formadas por dois pares paralelos de lâminas, as brânquias são responsáveis pela captura do alimento e se estendem desde a boca até a região posterior do corpo (MANZONI, 2005; SEMMLER, 2007). Segundo Manzoni (2005), os cílios branquiais apresentam uma eficiência de retenção do séston (partículas em suspensão na água) de 100% para partículas superiores a 4 µm. Partículas com tamanho de até 0,46 µm também são capturadas, porém com uma menor eficiência. A ingestão de partículas está também diretamente ligada ao tamanho desses bivalves (FURLAN, 2004). Ao comparar os dois bivalves citados, os mexilhões têm mais capacidade de ingerir partículas de maior tamanho (detritos orgânicos, silte e nanozooplânctons) do que as ostras (fitoplânctons) (KEHRIG et al., 2006).

Nos moluscos bivalves o trato digestivo engloba esôfago, estômago e intestino. Várias glândulas digestivas se abrem no estômago, geralmente por meio de uma dupla de divertículos (CEFAS, 2014). Estes, por sua vez, excretam enzimas que digerem os alimentos ingeridos. As células fagocitárias digerem partículas de alimentos intracelularmente. Uma haste alongada de muco solidificado conhecido como "estilo cristalino" se projeta no estômago a partir de um saco associado. Os cílios na bolsa fazem com que o estilete gire movimentando o conteúdo do estômago (alimento + muco). Esta movimentação constante de agitar impulsiona as partículas de comida para uma região de classificação na parte posterior do estômago. Isso desvia as partículas mais pesadas para o intestino e as mais leves para as glândulas digestivas (CEFAS, 2014).

Por serem animais sésseis, geralmente se fixam por estruturas chamadas bisso, que são responsáveis por sua aderência aos substratos rochosos e permanentes (Figura 3). Nos manguezais, a ostra *Crassostrea rhizophorae*, por exemplo, geralmente se encontra fixas aos rizóforos do mangue, ocupando a região entre marés (NASCIMENTO, 1983). Os bissos são como cordões produzidos por glândulas presentes nos pés dos mexilhões e das ostras que se formam através da secreção de proteínas, que à medida que são secretadas se polimeriza com a água do mar (RUPPERT & BARNES, 1996; SEMMLER, 2007). No caso das ostras, quando estas se fixam definitivamente aos substratos, a mudança de larva para ostra juvenil começa imediatamente. Durante a metamorfose, os órgãos larvais desaparecem, o pé é reabsorvido e o músculo retrator do velum desaparece, pondo fim à fase larval (CHRISTO, 2006).

Figura 3 - Anatomia da ostra.

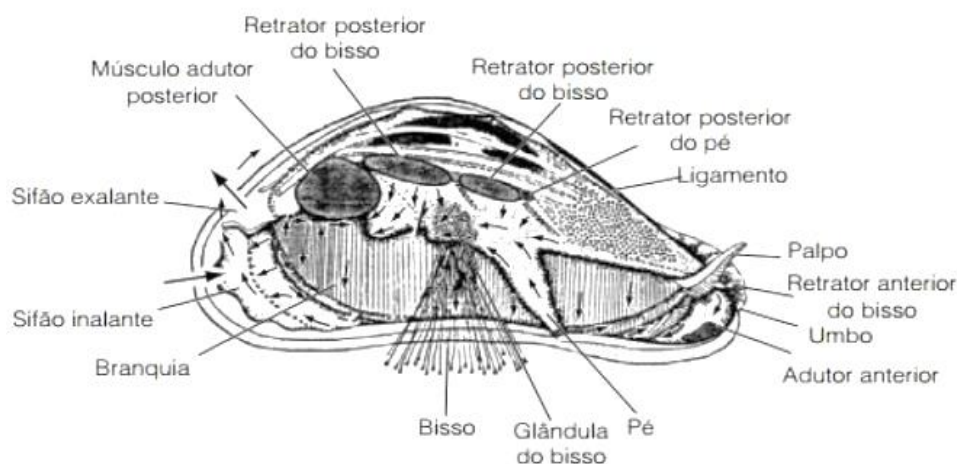


Fonte: SEBRAE, 2015.

A concha das ostras do gênero *Crassostrea* é relativamente fina, com a valva direita maior e escavada, enquanto a esquerda se encaixa nesta cicatriz muscular. As ostras desse gênero são ovíparas e hermafroditas sequenciais, sendo a gônada primária bissexual, sem dimorfismo sexual e apresentam fecundação externa seguida de desenvolvimento larval planctotrófico (ANDREWS, 1979). A maioria dos juvenis alcança a maturidade sexual antes de atingir os 30 mm, em aproximadamente 120 dias após a fixação (VÉLEZ, 1976; NASCIMENTO et al., 1980). Geralmente, começam a vida como macho passando em seguida a produzir oócitos e podendo novamente voltar a produzir espermatozóides (ANDREWS, 1979).

Já no que diz respeito aos mexilhões, uma de suas principais características é a ausência do sinus palial do músculo adutor posterior; além da presença de valvas com linhas de crescimento bem definidas (Figura 4) (HENRIQUES, 2004). É possível distinguir os machos das fêmeas quando atingem a maturidade sexual, através da coloração das gônadas, mesmo não apresentando dimorfismo sexual externo. As fêmeas apresentam cor alaranjada ou vermelho telha e os machos possuem cor branco leitosa ou creme claro (HENRIQUES, 2004; MANZONI, 2005; SEMMLER, 2007).

Figura 4 - Anatomia do mexilhão.



Fonte: SANTOS, 2014.

O crescimento dos mexilhões é considerado relativamente rápido e é sazonal, sendo praticamente nulo no inverno, devido à baixa temperatura, e disponibilidade de alimento. Porém, durante a primavera e verão ocorre ao contrário, as temperaturas elevadas provocam o aumento da taxa de alimentação e, subsequentemente, o aumento do crescimento (CAMACHO et al., 1995).

2.4.2 Concentração de Poluentes nos Moluscos Bivalves

Espécies aquáticas dependem do ecossistema ao seu redor para uma série de processos fisiológicos, como alimentação, trocas gasosas, excreção, reprodução e migração, o que as tornam sensíveis à poluição ambiental (TREVISAN et al., 2016). Os organismos bivalves mostram a capacidade de concentrar compostos tóxicos do ambiente estuarino, uma vez que são filtradores, apresentando boas indicações sobre a qualidade ambiental (FARRINGTON et al., 2016). Entretanto, ostras e mexilhões possuem diferentes capacidades de acúmulo de contaminantes, que possibilita a compreensão sobre o metabolismo e excreção, geralmente oriundos da absorção da solução, do fitoplâncton ingerido ou de outras partículas suspensas (WEN-XIONG & GUANGYUAN, 2017).

A assimilação dos contaminantes pelos bivalves é influenciada tanto por fatores externos, intimamente ligados à biodisponibilidade do poluente, quanto aos fatores biológicos do próprio organismo. Os fatores biológicos incluem idade, tamanho, sexo, genótipo, fenótipo, atividade alimentar, estado reprodutivo e condições fisiológicas (SAAVEDRA et al., 2004; MUBIANA et al., 2006). Variações sazonais, proximidade de fontes poluidoras, temperatura,

salinidade e material particulado em suspensão são exemplos de fatores externos (AZEVEDO, 1998).

Com relação aos contaminantes, estes geralmente estão disponibilizados nos ecossistemas costeiros associados ao material particulado em suspensão, dissolvidos na coluna d'água ou por deposição atmosférica (SALOMONS & FÖRSTNER, 1984). Na coluna d'água, se aglutinam às partículas em suspensão que se depositam no sedimento, podendo ser mobilizado novamente para a coluna d'água, e conseqüentemente para os organismos filtradores. Como os bivalves possuem a capacidade de filtrar grandes quantidades de água diariamente, podem acumular contaminantes inorgânicos e orgânicos nos tecidos em concentrações elevadas (FERREIRA et al., 2013; VIARENGO et al., 2007; PAGE, 2005). Entretanto, nos moluscos o excesso de poluentes pode causar estresse nestes organismos em relação aos seus processos vitais, de filtração e eliminação de dejetos. Por exemplo, os mexilhões e ostras contaminados gastam mais energia ao filtrar a água à procura de partículas para se alimentarem (BAPTISTA-NETO et al., 2008).

Segundo Baumard e colaboradores (1999), o aumento da concentração de HPAs nos tecidos de mexilhões da espécie *Mytilus edulis* na região do mar Báltico, pode estar relacionada a uma elevada taxa de filtração desses organismos ou ao seu ciclo reprodutivo. Os autores também identificaram em sua pesquisa que houve uma maior absorção dos HPAs de menor peso molecular nestes organismos, devido sua maior solubilidade.

A causalidade entre as vias de exposição a contaminantes e os efeitos observados nestes organismos é frequentemente difícil de determinar devido à multiplicidade de estressores presentes no ambiente marinho (KOELMANS et al., 2017). Conseqüentemente, a compreensão de pontos finais como bioacumulação e biomagnificação pode ajudar a melhorar a compreensão dos potenciais efeitos ecológicos associados a diferentes vias de exposição a diversos contaminantes no meio hídrico (USEPA, 1992). Bioacumulação e biomagnificação são dois conceitos usados em avaliações de risco ecológico para determinar a extensão do transporte de poluentes dentro das cadeias alimentares, geralmente se refere à contaminação química dissolvida (BOETHLING & MACKAY, 2000; ALEXANDER, 1999).

A bioacumulação é definida como a absorção de um contaminante no meio ambiente pelos organismos (GERBER, 2009; MAHER et al., 2016). Em outras palavras, ocorre quando a absorção de um contaminante é maior do que a capacidade de um organismo de geri-lo (WANG et al., 2016). Já a subsequente transferência trófica de um contaminante pode resultar na biomagnificação desses contaminantes em níveis tróficos mais elevados (KELLY et al., 2007). Ou seja, a biomagnificação é definida como o aumento na concentração de um

contaminante em um organismo em comparação com a concentração em sua presa (GERBER, 2009 e MAHER et al., 2016). Uma suposição importante para esta definição é que toda contaminação em níveis tróficos superiores é um resultado direto do consumo de presas em níveis tróficos inferiores.

Em alguns organismos, características particulares como nível trófico, dieta e habitat, podem influenciar na bioacumulação e biomagnificação de contaminantes (VIARENGO et al., 2007; BAUMARD et al., 1998). Portanto, os moluscos bivalves são considerados relevantes bioindicadores, uma vez que permitem a compreensão da dinâmica da poluição e sua influência negativa sobre a população humana que ingere alimentos provenientes destes ecossistemas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo foi avaliar a bioacumulação de elementos traço e HPAs em duas espécies de moluscos bivalves (ostras *Crassostrea rhizophorae* e mexilhões *Perna perna*) e analisar suas interações ambientais no sistema estuarino de Santos.

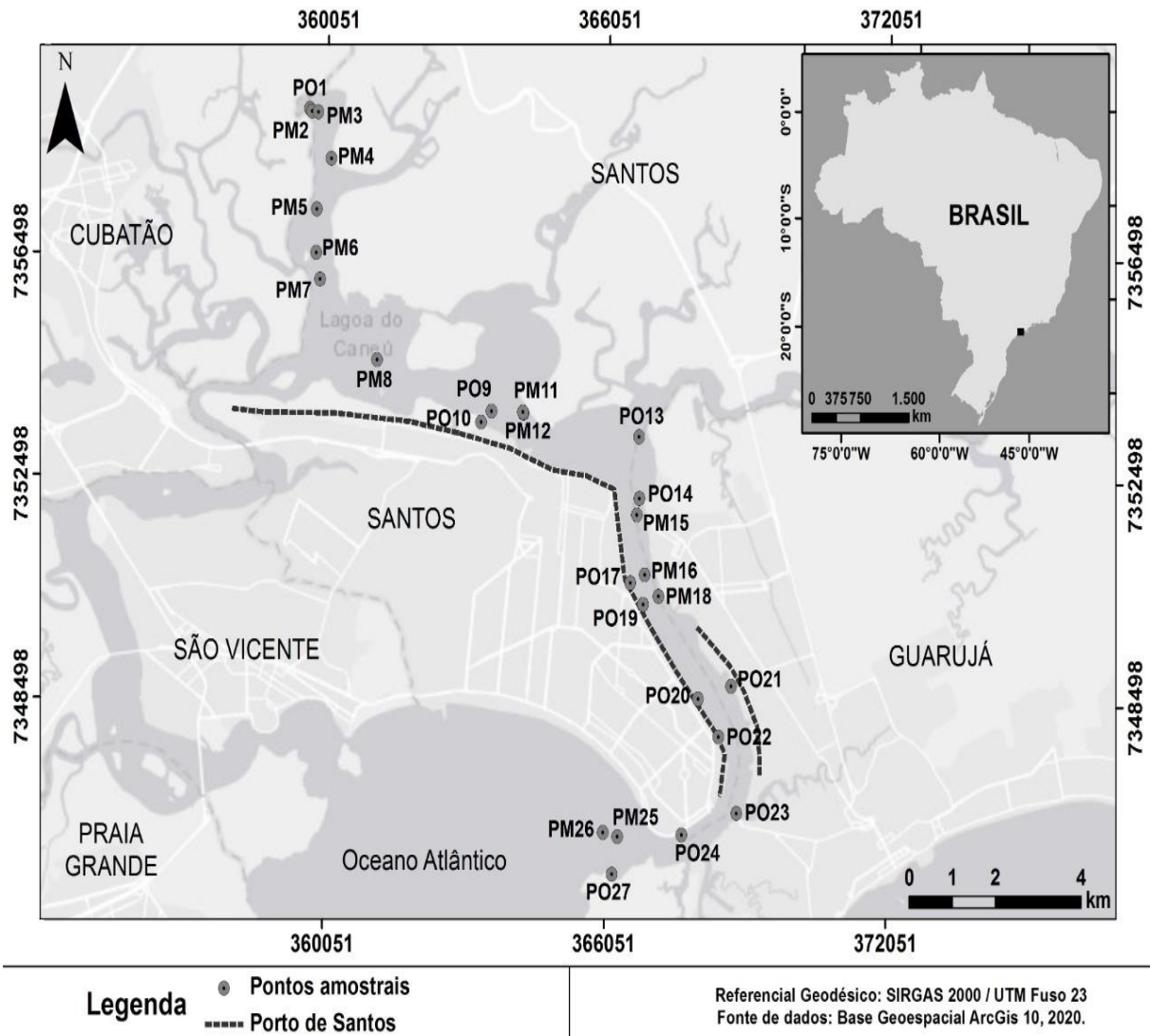
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar um diagnóstico da qualidade da água da área de estudo através da análise dos parâmetros físico-químicos;
- Identificar e quantificar os elementos traço (Zn, Cd, Pb, Fe, As, Hg, Cr, Ni e Cu) e HPAs nos tecidos moles das espécies de moluscos coletadas;
- Levantar dados acerca da contaminação por estes contaminantes em mexilhões e ostras em outras regiões do Brasil e do mundo, através da revisão de literatura, e comparar com este estudo;
- Avaliar a capacidade de bioacumulação dessas espécies, a fim de compreender a dinâmica de absorção de contaminantes;
- Com base na contaminação destes moluscos, indicar possíveis problemas à saúde humana decorrente do consumo destes organismos;
- Determinar a potencial influência do gradiente de salinidade na bioconcentração dos elementos traço;
- Fornecer insumos que subsidiem uma posterior avaliação de risco e a criação de estratégias de monitoramento e controle ambiental; e,
- Produzir artigos científicos, através dos dados obtidos deste estudo.

4 ÁREA DE ESTUDO

O sistema estuarino de Santos, localizado no litoral do estado de São Paulo (Figura 5), está inserido na Região Metropolitana da Baixada Santista, e é composto por nove municípios, sendo Santos e São Vicente os mais populosos (MUTO et al., 2014).

Figura 5 - Sistema estuarino de Santos (SP, Brasil) e pontos de amostragem.
(PO: Pontos de amostragem de ostras *C. rhizophorae* / PM: Pontos de amostragem de mexilhões *P. perna*)



Ao redor da Região Metropolitana, a construção de uma infraestrutura de transporte rodoviário e ferroviário, e a disponibilidade local de água e energia elétrica levaram, a partir da década de 50, o crescimento da região, com a implantação de diversas indústrias de base em meio aos canais estuarinos e extensos manguezais (LAMPARELLI et al., 2001). Atualmente, essa área também abriga o complexo industrial de Cubatão, uma das mais significantes áreas industriais petroquímicas e metalúrgicas do Brasil e o Porto de Santos, o maior porto industrial

da América Latina (MOREIRA & ABESSA, 2014; BURUAEM et al., 2013; LAMPARELLI et al., 2001).

Por sua importância econômica e ecológica, o sistema estuarino de Santos tem sido intensamente estudado, e representa os mais importantes exemplos brasileiros de desgaste ambiental por poluição hídrica e atmosférica de origem industrial em ambientes costeiros, com significativos reflexos à saúde pública e à biota aquática (HORTELLANI et al., 2008). Além disso, para acentuar ainda mais a situação, há um aumento expressivo da poluição ambiental durante o verão devido ao descarte de esgotos domésticos, uma vez que as cidades de São Vicente, Santos e Guarujá são polos turísticos da Baixada Santista (BRAGA et al., 2000).

Dentre as diferentes fontes pontuais e difusas de poluição, merece destaque o emissário submarino de Santos, que recebe efluentes industriais, portuários e domésticos dos municípios de Santos e São Vicente, que passam previamente por um condicionamento até serem lançados na Baía de Santos (ABESSA et al., 2005). Segundo Lamparelli e colaboradores (2001), embora haja muitos benefícios para a qualidade das praias na medida em que os emissários afastam o esgoto das mesmas, estes também podem trazer prejuízos ambientais se não forem bem dimensionados e operados (LAMPARELLI et al., 2001). Também deve ser levado em consideração, as toneladas de sedimentos contaminados que são dragados e descartados no oceano aberto adjacente (Torres et al., 2009) e os recorrentes acidentes com derramamentos de óleo e outras substâncias tóxicas no meio hídrico (CETESB, 1979; TOMMASI, 1979; LAMPARELLI et al., 2001).

Nesse contexto, o sistema estuarino de Santos está continuamente exposto à contaminação, devido principalmente à intensa atividade industrial e todas essas fontes antrópicas que contribuem direta ou indiretamente para a entrada de contaminantes nesta área.

5 METODOLOGIA

5.1 AMOSTRAGEM

A campanha amostral foi realizada no mês de setembro de 2019, onde foram coletados a partir de substratos consolidados disponíveis no local, ostras da espécie *Crassostrea rhizophorae* e mexilhões da espécie *Perna perna* (Figura 6 a e b). Para isso, foram escolhidos 27 pontos de amostragens (Figura 5) ao longo do sistema estuarino de Santos, englobando o canal de Piaçaguera, lagoa do Caneú, canal do Porto de Santos e a Baía de Santos, na saída do estuário. As coordenadas geográficas destes 27 pontos (Tabela 1) foram obtidas através do aplicativo Gaia GPS – versão 2021.11(3627).

Figura 6 - (a) Coleta de mexilhões *Perna perna*; (b) Coleta de ostras *Crassostrea rhizophorae*.



(a)

(b)

Fonte: Foto da pesquisa de campo.

Tabela 1 – Descrição dos pontos de coleta de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e mexilhões (*Perna perna*) no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil).

(PO: Pontos de amostragem de ostras / PM: Pontos de amostragem de mexilhões)

Pontos	Descrição	Latitude	Longitude
PO1	Canal de Piaçaguera	7359120	359657
PM2	Canal de Piaçaguera	7359061	359842
PM3	Canal de Piaçaguera	7358920	359863
PM4	Canal de Piaçaguera	7358225	360118
PM5	Canal de Piaçaguera	7357316	359820
PM6	Canal de Piaçaguera, próximo à foz do rio Perequê	7356537	359815
PM7	Canal de Piaçaguera, próximo à foz do rio Perequê	7356057	359907
PM8	Lagoa do Caneú, próximo ao Porto Alemoa	7354622	361130
PO9	Canal de Piaçaguera, próximo ao Porto Saboó	7353523	363364
PO10	Canal de Piaçaguera, próximo ao Porto Saboó	7353690	364263
PM11	Canal de Piaçaguera, próximo à ilha Barnabé	7353715	363582
PM12	Canal de Piaçaguera, próximo à ilha Barnabé	7353708	364248
PO13	Canal de Bertioiga	7353285	366728
PO14	Canal do Porto de Santos, próximo ao Forte Itapema	7352175	366750
PM15	Canal do Porto de Santos, próximo à travessia barca Santos e Vicente de Carvalho	7351879	366693
PM16	Canal do Porto de Santos	7350807	366874
PO17	Canal do Porto de Santos, próximo ao terminal de passageiros	7350662	366564
PM18	Canal do Porto de Santos	7350274	366845
PO19	Canal do Porto de Santos	7350425	367165
PO20	Canal do Porto de Santos, próximo ao Porto Macuco	7348545	368029
PO21	Canal do Porto de Santos, próximo a Santos Brasil Tecon	7348824	368732
PO22	Canal do Porto de Santos, próximo ao Porto Gente	7347911	368466
PO23	Canal do Porto de Santos, próximo ao Iate Clube	7346541	368863
PO24	Próximo à foz do canal do Porto de Santos	7346137	367698
PM25	Baía Santos	7346101	366333
PM26	Baía Santos	7346174	366019
PO27	Baía de Santos, próximo à praia de Góis	7345421	366215

A coleta dos organismos foi realizada com ajuda de uma pequena embarcação, fundo chato com motor de polpa de 90hp, para facilitar o acesso aos locais, no período da maré baixa vazante ou início da cheia, possibilitando assim a retirada manualmente dos bivalves nos píeres, rochas e boias. No total, foram coletados em média 15 indivíduos das espécies estudadas, para cada ponto definido, sendo 14 pontos de amostragem para os mexilhões *Perna perna*, e 13 pontos de amostragem referentes as ostras *Crassostrea rhizophorae* (Tabela 1).

Para manter a integridade dos organismos, sem nenhuma alteração externa, as amostras foram colocadas em recipientes devidamente identificados e, em seguida,

armazenadas em caixas de isopor com gelo. Ao retornar para o píer os mexilhões e ostras foram então abertos no mesmo dia de sua coleta (Figura 7 a e b).

Figura 7 - (a) Recipiente inox utilizado para abertura dos moluscos bivalves; (b) Extração do tecido mole da ostra com auxílio de uma espátula inox.



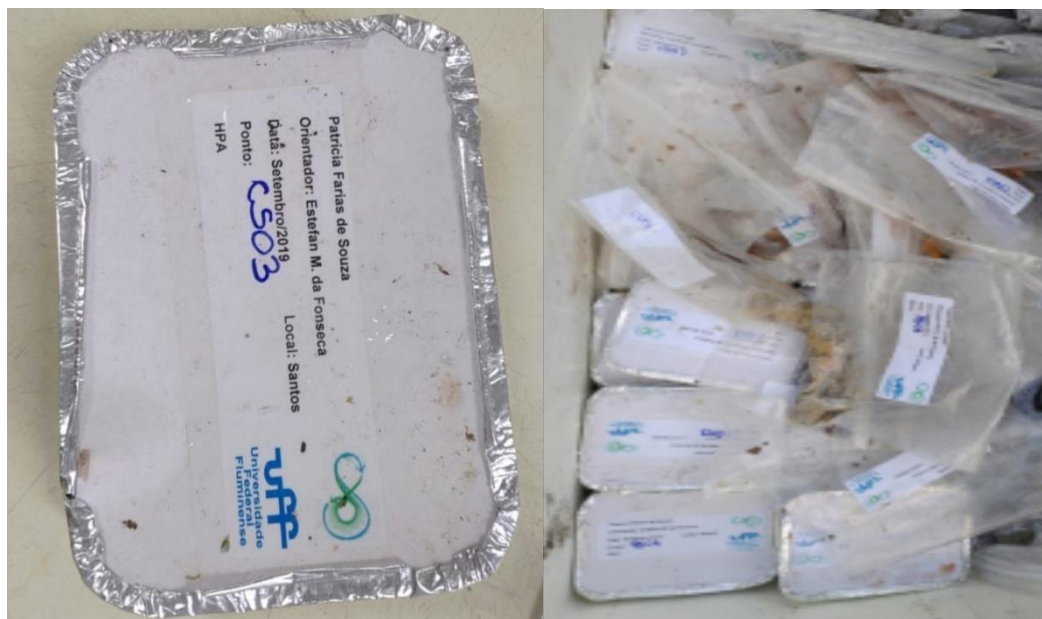
(a)

(b)

Fonte: Foto da pesquisa de campo.

Os espécimes de mexilhões e ostras tiveram seus tecidos moles extraídos de suas conchas com o auxílio de uma espátula e recipiente inox (Figura 7 a e b), até aproximadamente 200g para cada ponto amostral. Em seguida, as amostras reservadas para análise de HPAs foram armazenadas em recipientes de alumínio, enquanto as amostras para análise de elementos traço foram reservadas em sacos plásticos *zip lock* (Figura 8). Posteriormente, foram colocadas em caixas de isopor com gelo seco e transportadas para o laboratório da Universidade Federal Fluminense (UFF).

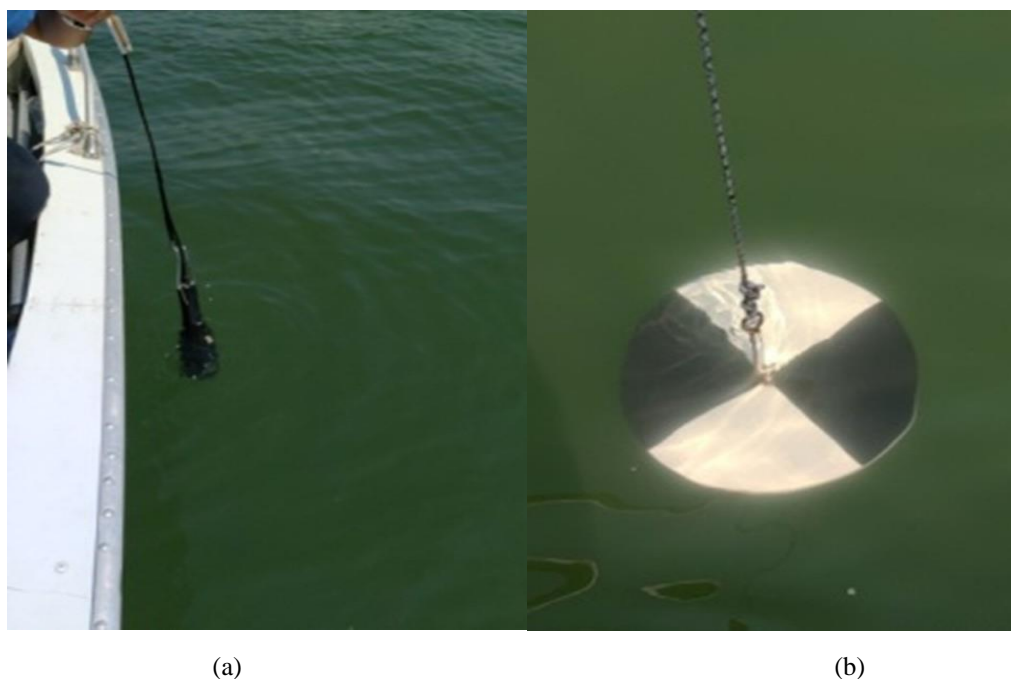
Figura 8 - Armazenamento das amostras para análise de elementos traço e HPAs.



Fonte: Foto da pesquisa de campo.

De maneira complementar, a fim de obter dados sobre os parâmetros físico-químicos na coluna d'água em cada ponto de coleta, utilizou-se durante a amostragem uma sonda multiparâmetros Horiba U10 (Figura 9 a), onde foram analisados os seguintes parâmetros: salinidade, sólidos totais dissolvidos (STD), oxigênio dissolvido (OD), temperatura e potencial hidrogeniônico (pH). A transparência da água foi analisada através do disco de Secchi (Figura 9 b). Para cada ponto, quando possível, as medições foram realizadas no fundo da coluna d'água, próximo ao sedimento, e na superfície da coluna d'água. Nos locais muito rasos, só foi realizada na camada mais superficial, uma vez que o local não fornecia profundidade suficiente para fazer a medição do fundo.

Figura 9 - (a) Sonda multiparâmetros Horiba U10; (b) Análise da transparência da água pelo disco de Secchi.



(a)

(b)

Fonte: Foto da pesquisa de campo.

5.2 ANÁLISE DOS CONTAMINANTES

Assim que as amostras chegaram ao laboratório da UFF, foram congeladas. Depois passaram pelo processo de secagem em estufa a 60 °C e em seguida maceradas, com um pilão em almofariz de porcelana, até virar um pó fino. Após este processo, as mesmas foram enviadas para um laboratório contratado para efetuar a análise de elementos traço e HPAs.

As concentrações dos elementos traço (As, Cd, Pb, Cu, Hg, Cr, Fe, Ni e Zn) acumuladas nos tecidos foram determinadas por espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), com base no método da USEPA 3051 e SMEWW 3120B (APHA, 1992). As recuperações quantitativas de elementos traço nos bivalves variaram de 95,3% a 104,5%. Os limites de detecção (LD) dos elementos As, Cd, Pb, Cu, Hg, Cr, Fe, Ni e Zn usando ICP-MS foram de 0,0040, 0,05, 0,0038, 0,0067, 0,009, 0,050, 0,0045, 0,0039 e 0,0461 mg/kg, respectivamente.

Dezoito HPAs foram determinados neste estudo, através do método descrito por Nakata e colaboradores (2003), com algumas adaptações. Em resumo, aproximadamente 3-5 g de tecido de bivalve foram homogeneizados com sulfato de sódio anidro e, em seguida, extraídos através do método Soxhlet por cinco horas com uma mistura de diclorometano:hexano (8:1). O extrato foi concentrado para 10 mL e uma alíquota foi analisada para lipídios extraíveis.

Padrões surrogates de quatro HPAs deuterados (acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d14) foram então adicionados ao extrato de amostra antes de ser fracionado usando cromatografia de permeação em gel (com 1:1 diclorometano:hexano como fase móvel) e cromatografia em coluna de sílica gel. O eluato foi concentrado para 20-30 μL . Em seguida, os HPAs foram determinados por cromatografia gasosa (Agilent 6980, Agilent Technologies, EUA) acoplado a espectrometria de massa (Agilent 5973) (CG-EM) no modo SIM (*Select Ion Monitoring* - monitoramento do íon selecionado). A coluna cromatográfica usada foi uma coluna capilar de sílica fundida BPX-5 (30 m x 0,25 mm id., S&G Scientific Inc., Austrália). Um branco de procedimento foi analisado com cada conjunto de cinco amostras. O LD foi definido como três vezes o valor dos brancos.

Os resultados obtidos foram analisados por meio do método de Análise de Variância (ANOVA), através do software estatístico Past (versão 3.20). Para tal método, quanto menor (mais próximo de zero) o valor de “p” maior a variância entre parâmetros sob análise. O nível de significância escolhido foi de 5% ($p \leq 0,05$). Para confirmar as diferenças entre as médias, foi utilizado o teste de Tukey e, para avaliar a relação potencial entre os elementos traço e os HPAs e sua assimilação por ostras e mexilhões, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson (r). Segundo Dancey & Reidy (2006), para este método valores $\geq 0,7$ são considerados fortes e significativos, $0,4 \leq |r| < 0,7$ uma correlação moderada e já para valores $< 0,4$ considera-se a correlação fraca.

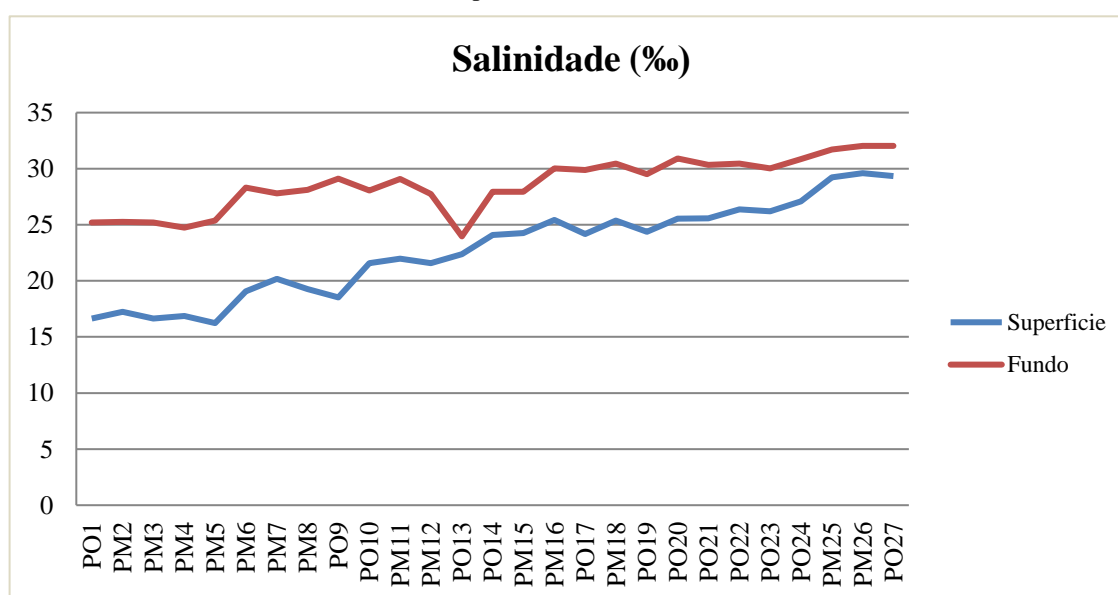
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os ambientes estuarinos são marcados pela presença de um gradiente de salinidade, onde a mesma diminui do oceano em direção à cabeceira do estuário devido à descarga de água doce dos rios. Esta variação da salinidade é determinante para a circulação estuarina, na qual possui um papel importante na preservação da estratificação da coluna d'água neste ambiente costeiro, uma vez que a água salgada – se considerarmos a uma temperatura constante – apresenta significativa maior densidade (SCULLY & GEYER, 2012). Tal dinâmica influencia também na distribuição de organismos ao longo do estuário, desde a bacia hidrográfica até o mar (CLOERN et al., 2017).

A variação da salinidade no presente estudo é demonstrada na Figura 10. No geral, é possível observar que, como esperado, os valores obtidos na superfície da coluna d'água foram mais baixos quando comparado com as camadas mais profundas. Em ambas as camadas analisadas, observou-se que os níveis de salinidade aumentaram consideravelmente em seus valores à medida que se aproximava da saída do estuário, próximo do encontro com o mar. Os valores de salinidade obtidos na camada mais superficial variaram entre 16,23‰ nos pontos mais próximos da desembocadura dos rios e 29,6‰ nos pontos mais próximos ao encontro do estuário com o mar e os valores nas camadas mais profundas variaram entre 23,97‰ e 32,03‰.

Figura 10 - Variação da salinidade (‰) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.

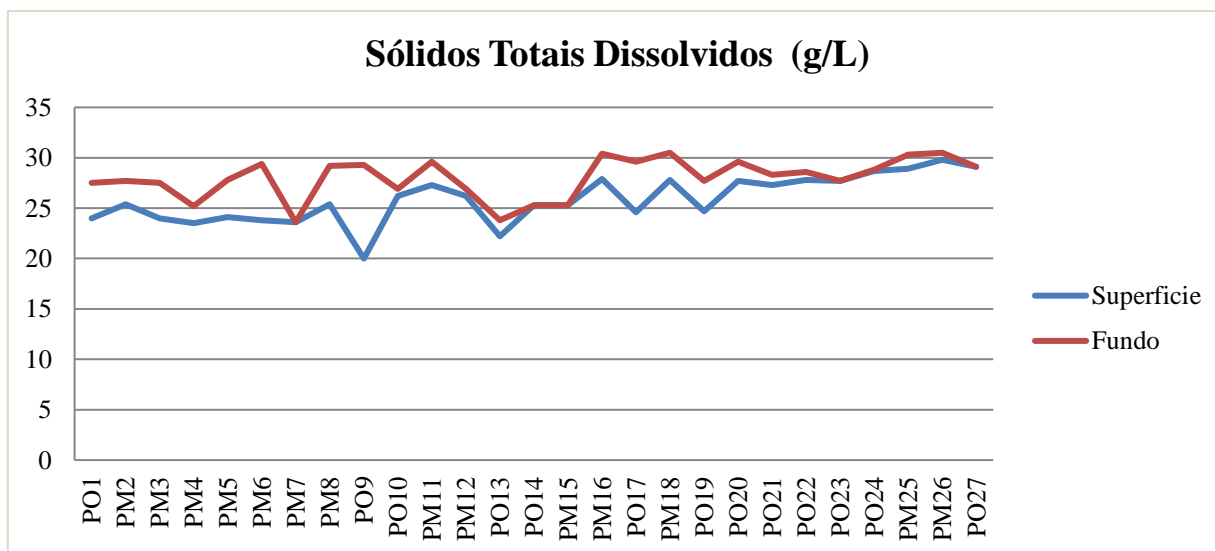


De acordo com Moser e colaboradores (2005), não só a vazão do rio, mas também a climatologia local da Baía de Santos tem influência decisiva nos parâmetros físico-químicos do

sistema estuarino, gerando grande variabilidade através das vazantes e promovendo uma intensa estratificação da coluna d'água. A campanha amostral foi realizada no período da vazante, o que justifica a predominância de valores de salinidade de águas salobras, que segundo a Conama nº 357/2005 é superior 0,5‰ e inferior a 30‰ (Brasil, 2005). Entretanto, foram encontrados pontos próximos à desembocadura do estuário, que são classificados como águas salinas, com valores igual ou superior a 30‰.

Como resultados obtidos pela utilização da sonda multiparâmetros (Horiba-U10) foram observados valores elevados para sólidos totais dissolvidos (STD). Os mesmos variaram entre 20 e 29,8 g/L para as medições de superfície, e para os resultados de fundo variaram de 23,6 a 30,5 g/L, conforme a Figura 11. Os valores mais elevados observados neste estudo foram nos pontos PM16, PM18, PM25 e PM26. Segundo Santos e colaboradores (2014), altos valores de STD pode reduzir a fotossíntese e causar um desequilíbrio na cadeia alimentar dos organismos, o que impossibilita a procura por alimentação, afetando diretamente o desenvolvimento dos moluscos bivalves (SANTOS et al., 2014).

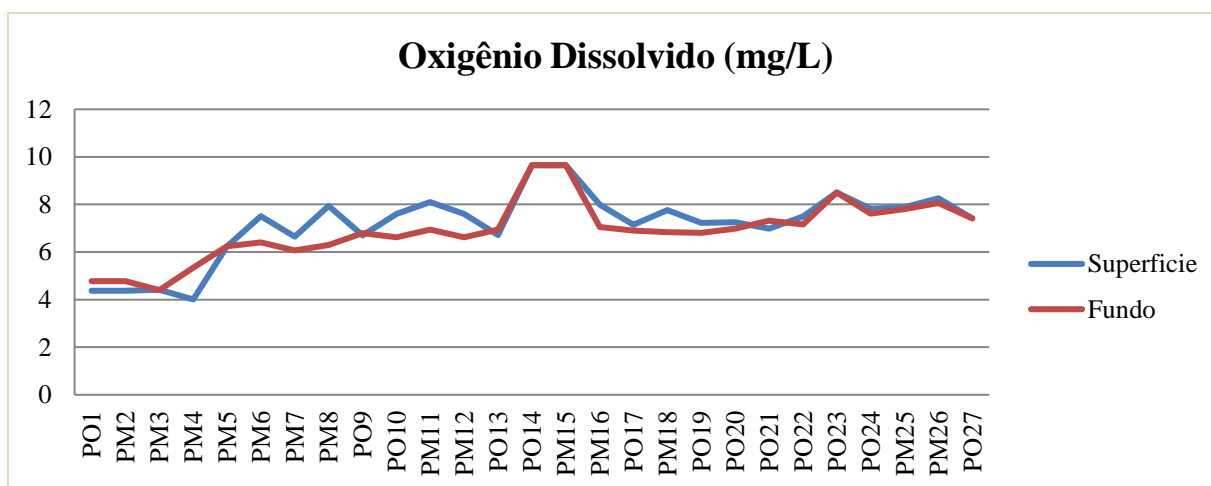
Figura 11 - Sólidos totais dissolvidos (g/L) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.



Com relação ao oxigênio dissolvido (OD), os valores variaram entre 4,01 e 9,65 mg/L para as camadas mais superficiais e 4,40 e 9,65 mg/L para as camadas mais profundas (Figura 12). Estudos sobre a qualidade da água em estuários, demonstram diversos valores para OD, uma vez que cada corpo hídrico tem sua dinâmica geoquímica diferenciada por estar exposto a diferentes variáveis e forçantes ambientais em suas bacias. Foram observados valores abaixo de 5 mg/L nos pontos localizados no canal de Piaçaguera (PO1 = 4,37, PM2 = 4,37, PM3 =

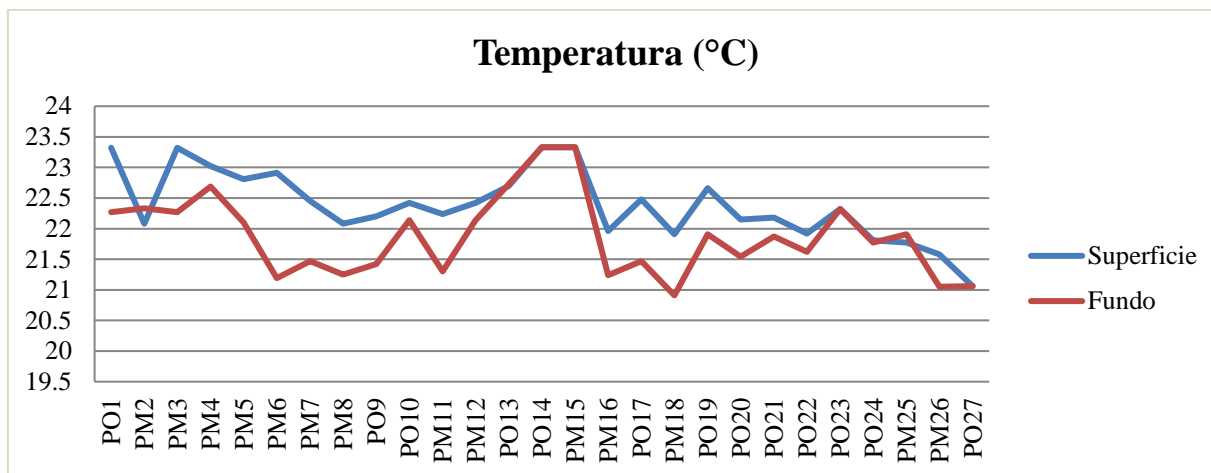
4,42 e $PM_4 = 4,01$ mg/L). Estes baixos valores, que já denotam significativo comprometimento à capacidade respiratória de vários organismos aquáticos, são reflexo do lançamento de elevadas cargas orgânicas provenientes de esgotos sem tratamento e efluentes industriais, que diminui a solubilidade de oxigênio na água, aumentando por sua vez, a demanda de OD para sua biodegradação (ESTEVES, 2011; CETESB, 2009).

Figura 12 - Oxigênio dissolvido (mg/L) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.



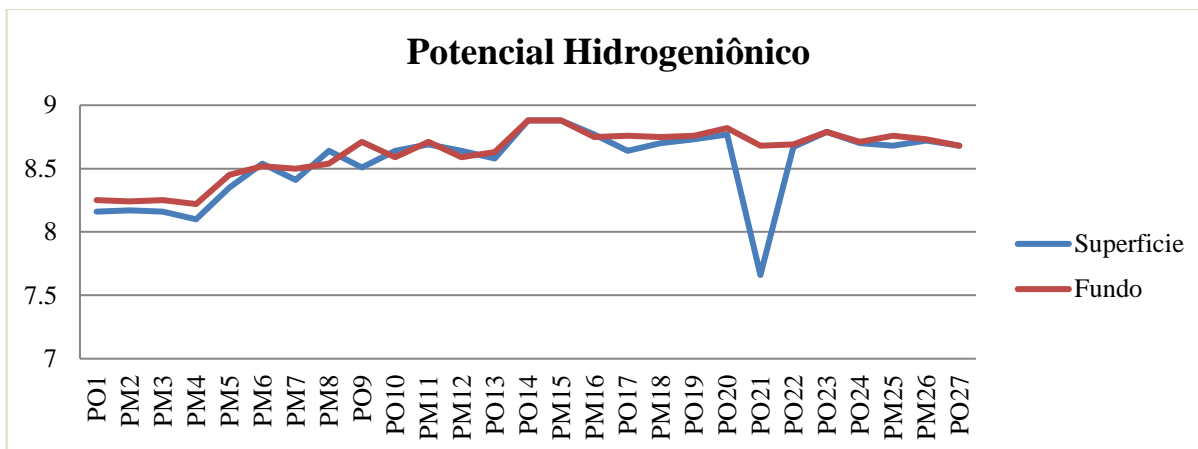
Outro parâmetro medido foi a temperatura, conforme mostrado na Figura 13. Os dados de temperatura seguiram um padrão que condiz com a estação do ano da campanha, com valores que variaram entre 21,06 e 23,33 °C nas camadas mais superficiais, e 20,91 e 23,33 °C para as camadas de fundo, apresentando uma discreta variação entre os pontos, com amplitudes de 2,42 °C entre a menor temperatura e a maior. A temperatura, é muito importante nos ambientes aquáticos, pode influenciar vários fatores físico-químicos, como a densidade, viscosidade, OD, e até mesmo nas alterações da especiação química de elementos traço, afetando toda a biota aquática. Este parâmetro pode variar em função de fontes naturais (ex.: energia solar) ou fontes antropogênicas (ex.: despejos industriais e águas de resfriamento de máquinas) (QUALIDADE DA ÁGUA, 2015).

Figura 13 - Temperatura (°C) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.



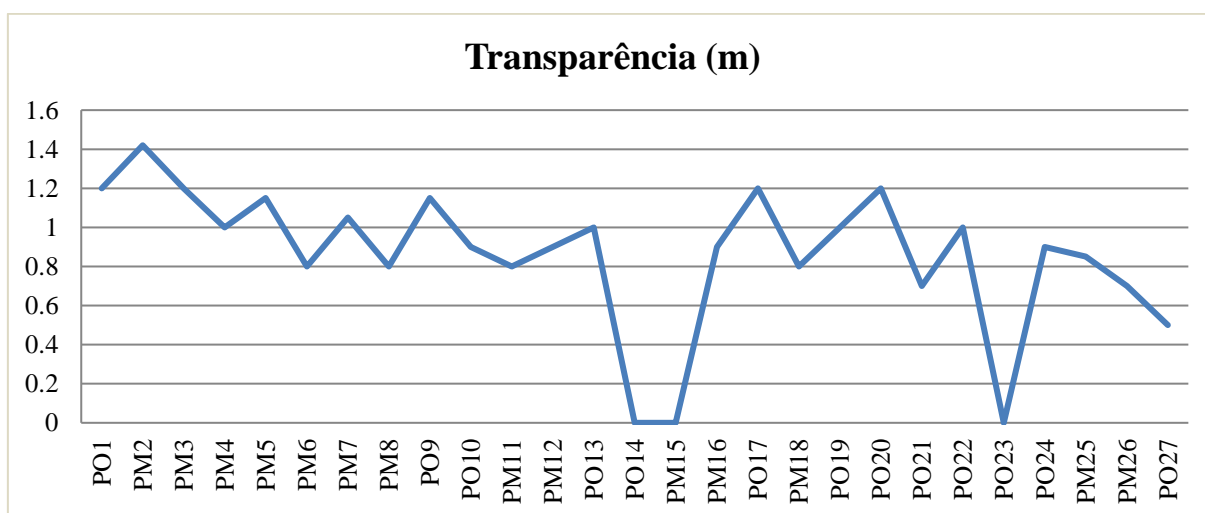
O potencial hidrogeniônico (pH) exprime o equilíbrio entre íons H^+ e íons OH^- ; com variações de 0 a 14. Dá indicações do quão ácida está a água, sendo a faixa esperada para águas superficiais de ambiente estuarino de 6 a 9. É um dos parâmetros abióticos fundamentais para a manutenção do equilíbrio do ecossistema e da vida aquática (CETESB, 2009; QUALIDADE DA ÁGUA 2015; FERREIRA DO NASCIMENTO et al., 2020). Durante todo o percurso do estuário, os valores de pH (Figura 14) tiveram resultados bem parecidos, variando entre 7,66 e 8,8 nas camadas mais superficiais e 8,22 a 8,88 nas camadas mais profundas. Observa-se na Figura 14 que este ambiente se mostrou majoritariamente alcalino, com exceção do PO21 (Canal do Porto de Santos, próximo a Santos Brasil Tecon – Ponto de coleta de ostras) que foi o único a apresentar pH inferior a 8. Esse resultado, levemente alcalino, porém dentro da faixa recomendável, pode estar relacionado com a renovação das águas estuarinas pela entrada da maré, nas proximidades da desembocadura do estuário. Isso ocorre devido à tendência das águas salgadas serem mais alcalinas e as águas doces serem ácidas (BAPTISTA-NETO et al., 2008). Segundo Naidu e colaboradores (1994), o pH da água influencia diretamente no grau de adsorção de vários compostos nos sedimentos, podendo torná-los biodisponíveis ou não na coluna d'água. Entende-se por biodisponibilidade qualquer fração das concentrações extraídas das amostras, que poderão ser absorvidas por organismos vivos (MARCHI et al., 2009).

Figura 14 - Potencial hidrogeniônico (pH) da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), por meio da sonda multiparâmetros Horiba U10.



A transparência da água foi analisada a partir da profundidade do desaparecimento do disco de Secchi (Figura 15), através da redução da radiação solar na coluna d'água, permitindo assim, determinar a espessura da zona eufótica (SANTOS, 2008). Esta zona eufótica é uma faixa vertical em que a intensidade de luz é suficiente para que haja crescimento de produtores primários, como o fitoplâncton (AAS et al., 2014). A presença de matéria em suspensão na matriz aquática, como argila, silte, substâncias orgânicas, organismos microscópicos e outras partículas, afetam a turbidez da água (Qualidade da Água, 2015).

Figura 15 - Transparência da água no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil), através do disco de Secchi.



A zona eufótica para a água costeiras, que em geral têm mais material particulado em suspensão, pode localizar-se nos primeiros 15 m de coluna de água, indicando uma boa produção biológica (AAS et al., 2014). Não foi possível obter dados sobre a transparência da

água nos pontos PO14, PM15 e PO23, uma vez que a profundidade da água estava menor que 20 cm, porém observou-se que os mesmos tinham uma água cristalina, sendo possível observar o fundo de pedras.

6.2 ELEMENTOS TRAÇO

De acordo com os dados obtidos, a maioria dos elementos traço apresentaram valores acima do LD em ambas às espécies de bivalves, exceto para: o Hg, em todos os pontos amostrais e nas duas espécies; o Cd nos pontos amostrais do mexilhão *Perna perna*; e, o Zn em dois pontos amostrais (PM8 e PM25), também do mexilhão. As concentrações dos elementos traço em mexilhões e ostras, presentes no sistema estuarino de Santos, são apresentadas nas primeiras linhas da Tabela 2. Nesta também são apresentados valores médios de outros estudos, para fins de comparação.

Os elementos traço As e Cd são considerados sem função essencial na fisiologia animal ou vegetal, porém podem representar uma ameaça ambiental significativa (PINOT et al., 2000; SATARUG et al., 2003; KIM, 2014; FREITAS et al., 2018). A exposição de bivalves ao arsênio trivalente (arsenito) é 60 vezes mais tóxica do que a forma oxidada pentavalente (arseniato), podendo resultar no desenvolvimento de profundo estresse hematopoiético e cardíaco (CHAKRABORTY et al., 2012). Para a saúde humana, o As possui um alto potencial carcinogênico e a dieta representa a maior via de exposição deste contaminante (TCHOUNWOU et al., 2003). Já no caso do Cd, este se encontra presente em baixos níveis em alguns alimentos como vegetais, carnes (fígado e rim), crustáceos e moluscos (SATARUG et al., 2003). Alguns autores demonstraram que esse elemento pode prejudicar os sistemas imunológico e reprodutivo de vários organismos, danificando potencialmente os cromossomos (KIM, 2014; INGLOT, et al., 2012; REICHEL-T-BRUSHETT & HARRISON, 1999). Os valores de As observados no sistema estuarino em questão variaram entre 1,98 e 8,61 mg/Kg em ostras e 2,37 e 8,95 mg/Kg em mexilhões. Já o Cd apresentou baixas concentrações em ostras com valores entre 0,24 e 0,93 mg/Kg.

Tabela 2 - Concentrações média (mínima – máxima) de elementos traço (mg/kg - peso seco) determinadas em moluscos bivalves no sistema estuarino de Santos (SP- Brasil), em comparação com valores da literatura e com a legislação brasileira (Brasil, 2021).

Referência	Espécie	Localização	Cd	Zn	Pb	Cu	Ni	Cr	Fe	As
Neste estudo	<i>C. rhizophorae</i>	Santos, Brasil	0,48 (0,24 – 0,93)	2569,14 (1177,3 – 5074,1)	0,56 (0,27 – 1,26)	142,68 (67,8 – 257,3)	0,85 (0,5 – 2,1)	0,33 (0,21 – 0,53)	191,38 (94,3 – 531,6)	4,85 (1,98 – 8,61)
	<i>P. perna</i>		<LD	88,3 (<LD – 390,6)	12,49 (0,539 – 156,62)	20,24 (5,3 – 38,8)	8,06 (3,4 – 24)	5,03 (0,30 – 52,22)	1387,67 (145,2 – 5435,5)	4,42 (2,37 – 8,95)
SHULKIN et al. (2003)	<i>C. gigas</i>	Rússia	17,6	5284	26,5	3946	-	-	-	-
	<i>Crenomytilus grayanus</i>		26	616	283	108	-	-	-	-
FUNG et al. (2004)	<i>P. viridis e Mytilus edulis</i>	China	1,23 - 4,96	76,89 - 141,3	0,51 - 0,90	1,83 - 22,58	1,50 - 3,31	2,18 - 10,93	120,6 - 681,5	12,93 - 24,55
ROJAS DE ASTUDILLO et al. (2005)	<i>C. rhizophorae</i>	Venezuela	0,43	488	-	14,6	0,17	0,23	-	-
	<i>P. viridis</i>		0,21	18,8	-	1,8	0,41	0,22	-	-
ORESCANIN et al. (2006)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Mar Adriático	-	105 - 127,9	3,9 - 4,2	5,3 - 6,9	1,9 - 2,4	1,8 - 1,9	85,8 - 261,3	13,3 - 15,6
TURECK et al. (2006)	<i>C. gigas</i>	Santa Catarina, Brasil	<1 - 3,08	53,1 - 184,6	-	1,27 - 53,62	<1 - 7,59	-	-	0,17 - 2,58
CATHARINO et al. (2008)	<i>P. perna</i>	Ilhabela, Brasil	0,11	15,4	-	-	-	0,09	22	1,88
DE SOUZA et al. (2011)	<i>C. rhizophorae</i>	Bahia, Brasil	-	1273	6,43	28,4	-	0,15	346	5,55
NICE & FISHER (2011)	<i>Mytilus edulis e M. planulatus</i>	Austrália	0,21 - 0,27	6 - 9,6	0,08 - 0,52	1,7 - 2,2	0,25 - 85	0,05 - 0,17	-	0,46 - 0,75
KUMAR et al. (2015)	<i>P. perna e Mytela sp.</i>	Vitória, Brasil	0,5 - 10	80 - 120	-	5 – 40	-	-	100 - 2.000	-
LINO et al. (2016)	<i>P. perna</i>	Rio de Janeiro, Brasil	<0,03 - 0,7	33 - 65	<0,6	3 - 3.200	<1,4 - 4,0	1,0 - 7,5	104 - 477	-
CAMPOLIM et al. (2017)	<i>P. perna</i>	Baía de Santos, Brasil	0,24 - 0,87	59 - 170	0,3 - 2,6	4 – 8	4,5 - 11,5	0,5 - 2,5	430 - 770	-
LMT** (IN n° 88/2021)	-	-	2,0	-	1,50	-	-	0,5	-	1,00

*<LD – abaixo do limite de detecção.

**LMT – Limite máximo tolerável de contaminantes em moluscos bivalves comestíveis, segundo a Instrução Normativa (IN) n° 88 de 26 de março de 2021 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

O Cu registrou concentrações relativamente altas nos tecidos das ostras, variando entre 67,8 e 257,3 mg/Kg. Nos mexilhões, o cenário foi diferente, com teores menores, variando entre 5,3 e 38,8 mg/Kg. Já para o Zn, este elemento traço esteve presente em valores extremamente elevados, principalmente nas ostras, com concentrações que variaram entre 1.177,3 e 5.074,1 mg/Kg, enquanto para os mexilhões foram abaixo de 390,6 mg/Kg. Ao comparar esses valores com aos valores estabelecidos por órgãos internacionais (Tabela 3), os níveis de Cu e Zn registrados no sistema estuarino de Santos são críticos, pois estão acima dos limites sugeridos, principalmente em tecido de ostras.

Tabela 3 - Limites máximos aceitáveis de Cu e Zn (mg/Kg) em animais marinhos por órgãos internacionais.

Organização	Cu	Zn
FAO ^a	-	-
WHO ^b	10	100
European Union ^c	-	-
FDA USA ^d	100	150

^a FAO: *Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed. Codex Standard 193 – 1995*

^b WHO 1982. *Toxicological Evaluation of Certain Food Additives. (Geneva: World Health Organization ISBN: 978-92-4-120940-3, p. 106.*

^c European Commission Regulation (EC No 1881/2006) concerning setting maximum levels for certain contaminants in foods (mg/Kg wet weight)

^d Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance, 2020. 3rd Ed. (USA: Department of Health and Human Services).

Já no que diz respeito à ingestão destes por seres humanos, a OMS e a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO - *Food and Agriculture Organization*) sugerem um limite tolerável provisório de 0,5 mg/Kg de Cu e de 0,3 a 1mg/Kg de Zn por dia (Tabela 4), sendo que indivíduos com peso superior a 65 kg não devem consumir mais do que 32,5 mg de Cu ou 65,0 mg de Zn por dia.

Tabela 4 - Ingestão tolerável provisória de Cu e Zn (mg/Kg, peso corporal).

Organização	Cu	Zn
FAO/WHO ^a	0,5 (PTMDI)	-
FAO/WHO ^b	-	0,3 – 1 (PTMDI)

Notes: PTMDI = *Provisional Tolerable Maximum Daily Intake*

^a FAO/WHO 2011 *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. WHO Technical Report Series 960 – JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee and Food Additives). Seventy third report p 237.*

^b FAO/WHO 1982 *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. WHO Technical Report Series 683 – JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee and Food Additives). Seventy third report p 237.*

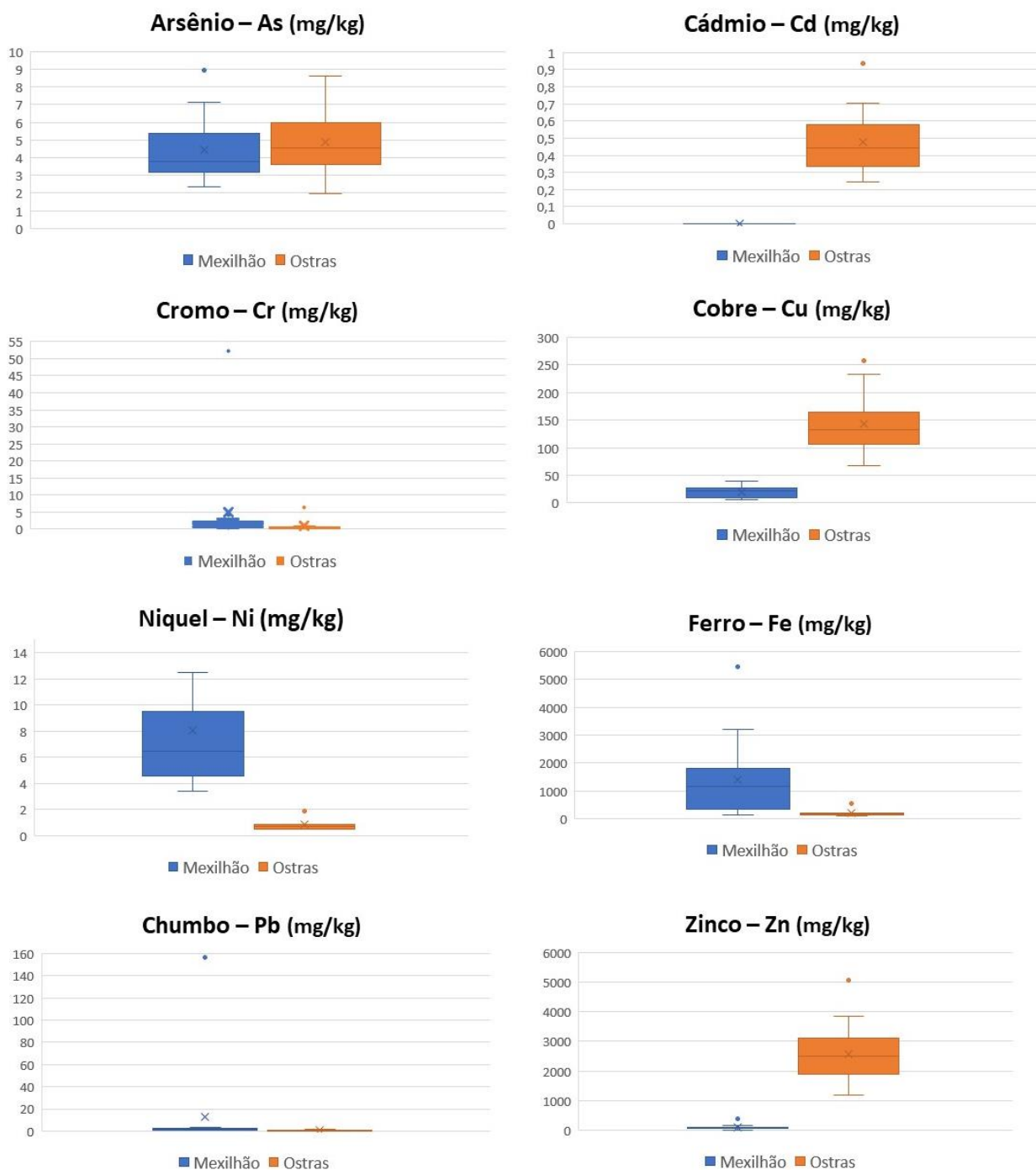
Ao comparar os resultados obtidos com as concentrações máximas permitidas pela ANVISA, Instrução Normativa n° 88/2021 (Brasil, 2021), para contaminantes inorgânicos em moluscos, o elemento traço As apresentou concentrações acima do limite estabelecido em ambas as espécies. Já para Pb e Cr, estes elementos também apresentaram concentrações de 8

a 10 vezes acima do limite máximo tolerável em mexilhões *Perna perna*. Outros elementos traço analisados neste estudo (Zn, Cu, Ni e Fe) não apresentam limites máximos recomendados para consumo humano pela ANVISA. Porém, quando comparado aos resultados disponíveis na literatura, para o Fe, por exemplo, o presente estudo indica valores significativamente elevados, principalmente em mexilhões. As concentrações variaram entre 94,3 e 531,6 mg/Kg em ostras e entre 145,2 e 5.435,5 mg/Kg em mexilhões. Já para o Cr, este apresentou concentrações mais elevadas nas amostras de mexilhão, variando entre 0,30 e 52,22 mg/Kg. Nas ostras os valores foram ligeiramente inferiores, variando entre 0,21 e 0,53 mg/Kg. Considerando os níveis de Ni, este não foram altos significativamente em nenhum dos bivalves.

De forma geral, os moluscos bivalves podem apresentar diferentes capacidades de acúmulo, metabolismo e excreção de contaminantes (WEN-XIONG & GUANGYUAN, 2017). Os mexilhões podem ingerir partículas maiores do que as ostras, que variam entre 1 µm a 4 mm (como detritos orgânicos, silte e fitoplânctons) (KEHRIG et al., 2006). Alguns autores utilizam esse argumento para justificar a maior capacidade do mexilhão em acumular compostos tóxicos, uma vez que as ostras são filtradores mais seletivos (RUELAS-INZUNZA & PÁES-OZUNA, 1998; KEHRIG et al., 2006). Apesar disso, concentrações acima dos limites foram mais comuns em ostras, sugerindo que a bioacumulação de contaminantes é também influenciada por outros parâmetros além da filtração.

Na Figura 16 é apresentada a comparação das concentrações de elementos traço nos bivalves em estudo. As concentrações de As foram semelhantes entre as duas espécies, sendo a concentração média nos mexilhões de 4,42 mg/Kg e 4,85 mg/Kg nas ostras. Além disso, o teste estatístico ANOVA mostrou o p valor acima de 0,05 ($p=0,5446$), confirmando a variação não significativa entre as duas espécies. A variabilidade também não pode ser considerada significativa entre as espécies para Cr e Pb ($p=2,2752$ e $p=3,105$, respectivamente). Mesmo assim, em ambos os casos os mexilhões apresentaram teores mais elevados com concentrações máximas de 52,22 e 156,62 mg/Kg, respectivamente (Tabela 2).

Figura 16 - Concentrações de elementos traço (mg/Kg - peso seco) bioacumulados em ostras *Crassostrea rhizophorae* e em mexilhões *Perna perna* no sistema estuarino de Santos (SP- Brasil).



A tendência dos mexilhões em bioacumular mais contaminantes do que as ostras, devido a sua filtração menos seletiva, foi observada no caso do Ni e do Fe, onde o teste estatístico mostrou significância quanto à variação entre as espécies ($p=0,0000$ e $p=0,0062$). Particularmente no caso do Fe, este elemento traço permanece no meio hídrico principalmente na forma de óxido particulado, que é sua forma mais estável na coluna d'água em valores de

pH quase neutros (BOYLE et al., 1977; HUNTER, 1983; DAI & MARTIN, 1995). Assim, embora altos níveis de Fe particulado tendam a se acumular em sedimentos estuarinos, uma significativa parte ainda pode ser transportada, permanecendo disponível para ser assimilada por organismos filtradores (SANDERS et al., 2015). Uma vez que o Ni apresenta elevada capacidade de se associar ao processo de processo de floculação estuarina (HASANI et al., 2017), logo, espera-se que para ambos os elementos (Fe e Ni) a sua forma associada aos particulados em suspensão seja aquela mais relevante na coluna d'água, influenciando o processo de incorporação de tais elementos por organismos filtradores, especialmente para mexilhões (ZHANG et al., 2014).

Em contraste com este padrão supracitado, os elementos Cd, Zn e Cu apresentaram valores significativamente maiores nas ostras ($p=0,000$ para os três elementos traço) (Tabela 2 e Figura 16). A bioacumulação de alguns elementos traço em tecidos bivalves pode estar diretamente conectada aos diferentes processos metabólicos que ocorrem dentro de tipos de células específicas em tecidos-alvo, resultando em diferentes padrões de bioconcentração (RAINBOW, 2006).

Assim como o presente estudo, Rojas e colaboradores (2005) também observaram a maior capacidade das ostras em acumular alguns elementos traço específicos, principalmente Cu e Zn. Segundo a literatura, as ostras podem tolerar concentrações de elementos traço muito elevadas, sem efeitos prejudiciais aparentes, o que poderia justificar sua capacidade de concentrar níveis mais elevados de Cd, conforme registrado neste estudo (LIN & HSIE, 1999; SOTO-JIMENEZ et al., 2001). Rojas e colaboradores (2005) também sugeriram que algumas espécies de mexilhões apresentam mecanismos de regulação para controlar os níveis de elementos traço em seus tecidos, num processo de autodetoxificação, com a ligação de elementos tóxicos a sítios de alta afinidade em grânulos inorgânicos, por exemplo, ou a várias proteínas como a metalotioneína (MT) (KHATI et al., 2012).

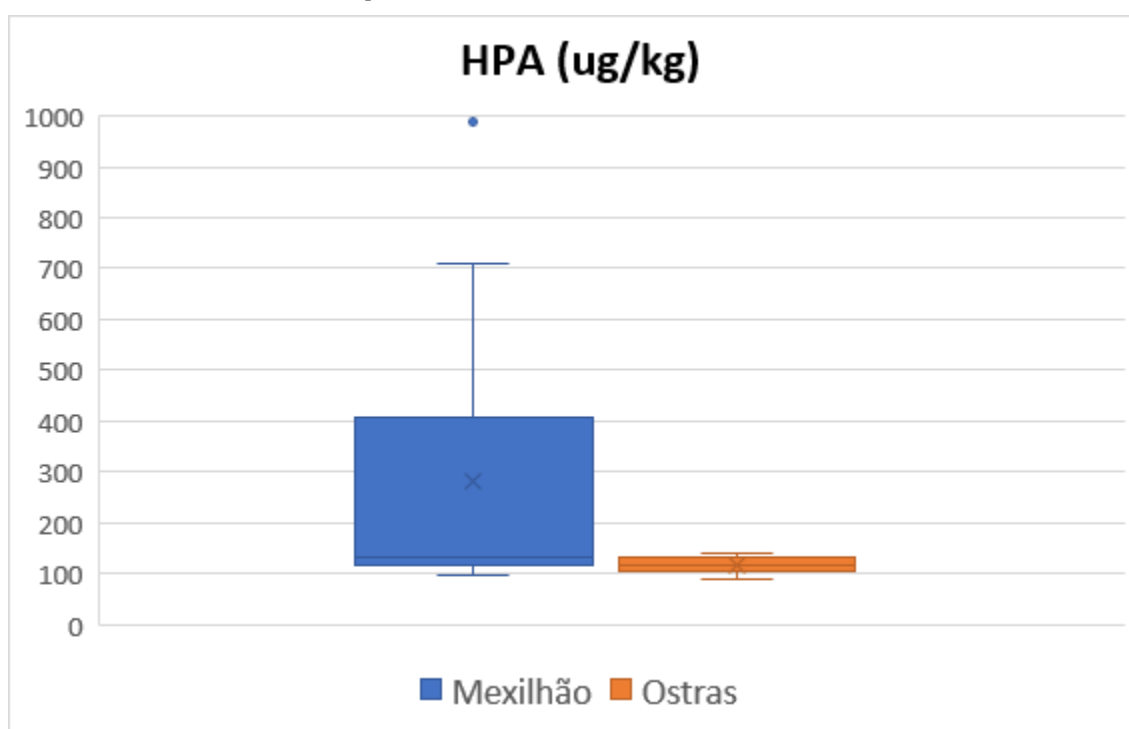
Devido a isso, os mexilhões podem não refletir com grande precisão os níveis no ambiente aos quais estão expostos. O mesmo argumento foi usado por Shirneshan e Bakhtiari (2012). Os autores observaram o padrão de acúmulo de elementos traço (Pb, Zn, Cu e Cd) nos tecidos de ostra e sugerem que estes organismos podem reter Cu e Zn em seu corpo. Entretanto, para o Pb o processo é inverso, conforme observado no presente estudo (Figura 16). Ainda assim, os diversos níveis de elementos traço encontrados nos bivalves do sistema estuarino de Santos, poderiam ser decorrentes das diferentes afinidades dos elementos aos sítios de ligação das MT.

A produção de MT mostrou ser induzida pelo enriquecimento de elementos traço em várias espécies marinhas. Por esta razão, sua aplicação como biomarcadores de exposição a estes contaminantes, passou a ser usada (COSSON & AMIARD, 2000). É geralmente relatado que o papel básico desta proteína é a homeostase de elementos essenciais como Cu e Zn (TANGUY et al., 2003). Também está envolvida na desintoxicação de elementos não essenciais, como Ag, Cd e Hg (ROESIJADI, 1992; COSSON & AMIARD, 2000; KHATI et al., 2012). Assim, no presente estudo, a alta concentração de Cd encontrada no tecido mole da ostra pode estar relacionada ao processo de desintoxicação do Cd nesse molusco pela proteína MT (ENGEL, 1999; APETI et al., 2005).

6.3 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs)

No presente estudo, as concentrações de HPAs em mexilhões variaram de 96,94 a 988,76 $\mu\text{g/Kg}$ e em ostras variaram de 88,38 a 138,62 $\mu\text{g/Kg}$, conforme é demonstrado na Figura 17. As altas concentrações de HPAs encontradas nestes bivalves demonstram que o sistema estuarino de Santos está sujeito à contaminação crônica por hidrocarbonetos, uma vez que os níveis encontrados são da mesma magnitude que os valores expostos na literatura em ambientes contaminados (TANAKA & ONDUKA, 2010; MOSCHINO et al., 2011).

Figura 17 - Variação dos níveis de HPAs ($\mu\text{g/Kg}$) em amostras de mexilhão *Perna perna* e ostras *Crassostrea rhizophorae* no sistema estuarino de Santos (SP, Brasil).



A análise estatística (ANOVA) classificou a variação de concentração de HPAs entre as espécies como significativa ($p = 0,0393$). As diferenças nas concentrações de hidrocarbonetos podem estar relacionadas às diferentes condições ambientais de cada ponto amostral, uma vez que cada espécie se estabelece em um micro habitat específico, que lhe assegure as condições mínimas de sobrevivência frente a suas demandas morfofisiológicas. Alguns autores sugerem que pode haver uma diferença na dinâmica de concentração de hidrocarbonetos entre as espécies de ostra e mexilhão (JACK et al., 2005). Por exemplo, o estudo realizado por Ito e colaboradores (2015) também encontrou concentrações de HPAs significativamente maiores nos mexilhões do que nas ostras na baía de Osaka no Japão (ITO et al., 2015).

Por argumentos similares aos apresentados anteriormente, no tópico sobre elementos traço, é esperado que mexilhões apresentem maiores taxas de ingestão de contaminantes, principalmente pelo fato de serem filtradores menos seletivos. Além disso, estes tendem a ficar mais próximos à superfície da água, logo são mais expostos aos HPAs.

Segundo Rubio-Clemente e colaboradores (2014), a dinâmica da bioconcentração de HPAs pode estar ligada ao seu caráter hidrofóbico, fazendo com que estes contaminantes se associem a outras partículas suspensas presentes na coluna d'água, contribuindo assim para o seu acúmulo nos sedimentos e nos tecidos lipídicos dos organismos bivalves. Como os mexilhões são menos seletivos em seu processo de filtração, eles seriam mais propensos à assimilação de hidrocarbonetos.

O tipo de exposição dos bivalves e sua duração apresenta um efeito direto na capacidade destes em depurar os HPAs acumulados. Em condições de exposição de curto prazo a contaminantes, há uma rápida degradação desses compostos (STEGEMAN & TEAL 1973, BOEHM et al., 1982). Porém, em condições de exposição crônica, os bivalves nem sempre perdem prontamente sua carga acumulada (BOEHM & QUINN, 1977). Além disso, as concentrações de HPAs diminuem nos tecidos desses animais conforme ocorre a diminuição da concentração destes compostos no meio hídrico (VIARENGO et al., 2007; PAGE, 2005).

Os valores de HPAs encontrados neste estudo foram comparados com outros trabalhos realizados em diferentes áreas costeiras do Brasil e do mundo (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentrações de HPAs (ug/kg, peso seco) determinadas no tecido mole de moluscos bivalves, coletados em diferentes áreas costeiras do mundo.

Referência	Espécie	Localização	HPAs (µg/kg)
Neste estudo	<i>Perna perna</i>	Santos - SP	96,94 - 988,76
	<i>C. rizhophorae</i>		88,38 - 138,62
NOGUEIRA et al. (2017)	<i>Perna perna</i>	Baía de Guanabara - RJ	1.400 – 3.397
YOSHIMINE & CARREIRA (2012)	<i>Perna perna</i>	Baía da Ilha Grande - RJ	4,88 – 584
PEREIRA et al. (2007)	<i>Perna perna</i>	Canal de São Sebastião - SP	180 - 1.630
MAIOLI et al. (2010)	<i>Mytella charruana</i>	Lagoas Mundaú e Manguaba - AL	41,4 - 525
FRANCIONI et al. (2005)	<i>Perna perna</i>	Baía de Guanabara - RJ	532 - > 6.000
ARIAS et al. (2009)	<i>Brachyodontes sp</i> e <i>Tagelus sp</i>	Baía Blanca - Argentina	349 - 1.597
YAP et al. (2012)	<i>Perna viridis</i>	Estreito de Johore - Ásia	36,4 - 244
BROMAN et al. (1990)	<i>Mytilus edulis</i>	Costa sueca do Mar Báltico	40 – 1.330
ISOBE et al. (2008)	<i>Perna viridis</i>	Sul e Sudeste asiático	11 – 1.133
SKARPHEDINSDOTTIR et al. (2007)	<i>Mytilus spp</i>	Águas costeiras nórdicas	10 - 11.670
BANJOO (2006)	<i>C. rizhophorae</i>	Golfo de Paria - Trinidad	15,1–362
BAUMARD et al. (1999)	<i>M. galloprovincialis</i>	Costa mediterrânea da Espanha e França	25 - 337
MOSCHINO et al. (2011)	<i>M. galloprovincialis</i>	Veneza – Itália	67 – 2.434
RAMDINE et al. (2012)	<i>C. rizhophorae</i>	Guadalupe	57,4 – 915
KANHAI et al. (2015)	<i>C. rhizophorae</i>	Pantano Caroni – Trinidad	109 - 362

Na comparação com estudos realizados com a espécie *Perna perna*, na Baía de Guanabara, uma das regiões estuarinas que sofre grandes impactos com ações antropogênicas, também foram observadas altas concentrações de HPAs, com valores que ultrapassam 6.000 µg/kg (NOGUEIRA et al., 2017; FRANCIONI et al., 2005). Banjoo (2006), no Golfo de Paria, analisaram hidrocarbonetos em ostras da mesma espécie e encontraram valores similares (15,1 - 362 µg/kg) a este estudo. Já Ramdine e colaboradores (2012), em Guadalupe, observaram valores acumulados maiores (57,4 - 915 µg/kg).

Os efeitos causados pela ingestão de HPAs se manifestam usualmente de forma crônica. Assim, o monitoramento ambiental, em conjunto com a avaliação de risco, são considerados ferramentas importantes para avaliar os potenciais efeitos negativos de longo prazo, tanto do ponto de vista do equilíbrio ecossistêmico quanto sob a ótica da saúde pública.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) os HPAs podem gerar problemas sistêmicos (anemias, náuseas, vômitos, convulsões, letargias, dermatites, distúrbios de consciência, dentre outros), carcinogênicos e mutagênicos (WHO, 1998). É uma classe considerada prioritária pela Agência de Proteção Ambiental Americana (US EPA, 1998). Estas propriedades carcinogênicas e mutagênicas são também corroboradas pela Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC, 2013).

6.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

6.4.1 Correlação de Pearson (elementos traço + salinidade)

Para fins de apresentação dos dados, optou-se por segmentar as análises de correção em parâmetros por espécie analisada, assim as tabelas que se seguem são respectivamente representativas dos mexilhões e ostras. No que diz respeito à correlação/variância entre estas duas espécies, tais observações e comentários foram conduzidos nos tópicos anteriores.

Tabela 6 - Correlação entre parâmetros em mexilhões *Perna perna*.

	Salinidade	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Fe	Ni	Zn
Salinidade	1								
As	0,4767	1							
Cd	-	-	1						
Pb	-0,3378	0,0227	-	1					
Cu	-0,5939	-0,3539	-	0,5680	1				
Cr	-0,3628	0,0041	-	0,9981	0,5927	1			
Fe	-0,5072	-0,2374	-	0,8193	0,7751	0,8478	1		
Ni	0,0551	0,1961	-	0,2405	0,0865	0,2300	0,1054	1	
Zn	0,1304	0,2083	-	0,1955	0,2277	0,1797	0,0052	0,8124	1

Tabela 7 - Correlação entre parâmetros em ostras *Crassostrea rhizophorae*.

	Salinidade	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Fe	Ni	Zn
Salinidade	1								
As	0,7113	1							
Cd	-0,5995	-0,0086	1						
Pb	-0,0487	-0,0755	-0,0895	1					
Cu	0,5659	0,6585	-0,0462	-0,0303	1				
Cr	0,0664	-0,2368	-0,3386	-0,1405	-0,3427	1			
Fe	-0,0728	-0,1711	-0,1666	-0,0261	-0,2686	0,0236	1		
Ni	-0,1319	-0,2195	-0,0727	0,7396	-0,0661	-0,0546	0,1439	1	
Zn	-0,6558	-0,1832	0,9188	-0,1218	-0,0155	-0,4056	-0,0394	0,0158	1

Na tabela 6, sobre os mexilhões, foram observadas cinco correlações positivas fortes nomeadamente entre Cr e Pb, Fe e Cr, Fe e Pb, Zn e Ni, Fe e Cu, com valores de “r” variando de 0,9981 a 0,7751 e duas moderadas entre Cu e Pb, Cr e Cu, com valores de “r” variando de 0,5680 a 0,5927. Também foram observadas duas correlações negativas moderadas dos elementos Cu e Fe com a salinidade, com valores de “r” de -0,5939 e -0,5072, respectivamente.

Já na tabela 7, sobre as ostras, três foram as correlações fortes e também positivas, estas se deram entre Zn e Cd (0,9188), entre Ni e Pb (0,7396) e ainda entre As e a salinidade (0,7113). Também foi observada uma correlação positiva moderada entre Cu e a salinidade (0,5659). Para as correlações negativas, foi observada uma correlação moderada para os elementos Cd e Zn com a salinidade, com valores de “r” de -0,5995 e -0,6558, respectivamente.

Alguns estudos definiram a influência da salinidade na mobilidade, biodisponibilidade e toxicidade de elementos traço (DU LAING et al., 2008; CHU et al., 2015). Em geral, a toxicidade de elementos traço está inversamente relacionada à salinidade. Kumar e colaboradores (2015) registraram níveis mais elevados de Cd, Cu, Fe e Mn em amostras de bivalves coletadas em locais de menor salinidade, como foz de rios, estuários e canais de esgoto. Isto pode ser explicado pelo fato de, além de uma potencial maior concentração devido à proximidade da fonte geradora, em baixas salinidades os elementos traço tendem a permanecer na forma coloidal, aumentando a fluotabilidade das partículas e resultando na biodisponibilidade para organismos específicos, como os filtradores (WELTENS et al., 2000).

Pan e Wang (2012) destacaram a importância da fração coloidal na bioassimilação de elementos traço, demonstrando que as propriedades geoquímicas dos colóides e as dos elementos traço são críticas para determinação da biodisponibilidade de elementos ligados a colóides para bivalves marinhos. Segundo esses autores, os elementos ligados aos colóides maiores isolados das águas estuarinas são mais biodisponíveis do que aqueles ligados aos menores. Com o aumento da concentração de sal, esses contaminantes tendem a se associar a partículas maiores (<0,7µm), concentrando-se progressivamente em sedimentos, que atuam como reservatórios temporários, isolados de bivalves que não vivem na parte inferior do meio aquático (MAGALHÃES et al., 2015).

De forma semelhante, quando os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} estão presentes em concentrações relativamente altas na coluna de água, os elementos traço serão novamente dessorvidos das partículas suspensas, como resultado da competição entre esses cátions divalentes e os íons metálicos (SAGLAM et al. 2013). Este processo de sorção é importante para Zn e Cd em particular (MILLWARD & LIU, 2003), conforme observado pela correlação mostrada entre elementos traço e salinidade (Tabela 7) em amostras de ostras para Zn ($r = -0,6558$) e Cd ($r = -$

0,5995). Porém, de acordo com os resultados estatísticos, a maioria dos elementos traço apresentou correlação inversa, embora fraca, com a salinidade (Tabelas 6 e 7). No caso do Fe em particular, o teste de Pearson confirmou a relação entre este elemento traço e a salinidade para mexilhões. Concentrações mais altas foram registradas nos pontos mais internos do estuário ($r = -0,5072$), sugerindo o mesmo padrão seguido por Zn e Cd.

O As foi uma exceção, uma vez que apresentou correlação moderada em mexilhões ($r = 0,4767$) e forte em ostras ($r = 0,7113$). Este padrão inverso pode ser facilmente explicado, uma vez que o As existe como um ânion e não está competindo por locais de absorção (MCLUSKY et al., 1986).

6.4.2 Correlação de Pearson (elementos traço + HPAs)

De modo complementar, as tabelas a seguir trazem também as correlações entre os elementos traço analisados e os HPAs (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8 - Correlação entre os elementos traço e HPAs observadas em mexilhões *Perna perna*.

	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Fe	Ni	Zn	HPAs
As	1								
Cd	-	1							
Pb	0,0228	-	1						
Cu	-0,3540	-	0,5680	1					
Cr	0,0041	-	0,9981	0,5928	1				
Fe	-0,2375	-	0,8193	0,7752	0,8478	1			
Ni	0,1962	-	0,2406	0,0866	0,2301	0,1055	1		
Zn	0,2083	-	0,1956	-0,2278	0,1798	0,0053	0,8124	1	
HPAs	-0,2337	-	0,7446	0,6178	0,7688	0,9095	0,1237	0,0827	1

Tabela 9 - Correlação entre os elementos traço e HPAs observadas em ostras *Crassostrea rhizophorae*.

	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Fe	Ni	Zn	HPAs
As	1								
Cd	-0,0086	1							
Pb	-0,0756	-0,0895	1						
Cu	0,6586	-0,0462	-0,0304	1					
Cr	-0,2369	-0,3386	-0,1406	-0,3428	1				
Fe	-0,1711	-0,1667	-0,0261	-0,2687	0,0237	1			
Ni	-0,2195	-0,0728	0,7396	-0,0662	-0,0547	0,1439	1		
Zn	-0,1832	0,9188	-0,1219	-0,0155	-0,4056	-0,0394	0,0158	1	
HPAs	-0,4283	0,0620	0,3850	-0,5170	0,3201	0,0591	0,4918	-0,0094	1

Além das correlações entre os próprios elementos traço, sinalizadas no tópico anterior, os resultados obtidos confirmaram a hipótese de associação de certos contaminantes com partículas flutuantes, no caso dos mexilhões. O caráter hidrofóbico dos HPAs tornou esse grupo de contaminantes eficaz para essa via de bioacumulação. Assim, os resultados de correlação significativa destes hidrocarbonetos com Pb, Cr e Fe, sugere este processo como a forma de assimilação predominante.

Já nas ostras, a produção de MT apresentou-se como elemento determinante, pela correlação direta entre Zn e Cd, ambos estimulantes da produção dessa proteína, que segundo a literatura, as torna mais capazes de acumular elementos traço, sem danos fisiológicos letais.

7 CONCLUSÃO

Os moluscos bivalves possuem uma grande importância para as pesquisas que objetivam monitorar a biodisponibilidade e concentração de contaminantes no meio ambiente marinho e nos organismos.

No presente estudo, parte significativa das concentrações de elementos traço e HPAs encontradas em ostras e mexilhões, foram consideradas elevadas, confirmando o caráter industrializado e impactado do sistema estuarino. Muitos dos níveis ficaram acima dos limites legais recomendados no Brasil, pela Instrução Normativa nº 88/2021 (Brasil, 2021), como o As, Pb e Cr.

Os resultados mostraram que tanto o mexilhão *P. perna* quanto a ostra *C. rhizophorae* são indicados ao monitoramento ambiental de poluentes. Porém, os resultados obtidos sinalizaram que a dinâmica de acúmulo de contaminantes é particular, dependendo do organismo e do poluente. O mexilhão *P. Perna*, por suas características de maior capacidade de filtração, demonstrou acumular mais os elementos traço Ni, Fe e HPAs do que as ostras *C. rhizophorae*. Já as ostras *C. Rhizophorae*, por apresentarem mecanismos de melhor assimilação e autodetoxicação, mostraram maior capacidade de bioacumular Cd, Zn e Cu, quando comparadas aos mexilhões. A utilização de qualquer um desses organismos bivalves, como indicadores biológicos de contaminação por elementos traço e HPAs em águas costeiras locais, necessitará de investigações adicionais para desenvolver os protocolos para seu uso.

Os resultados deste estudo recomendam que ambos os bivalves presentes no sistema estuarino de Santos são impróprios para consumo, podendo causar prejuízos à saúde humana.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAS, E.; HØKEDAL, J.; SØRENSEN, K. **Secchi depth in the Oslofjord–Skagerrak area: theory, experiments and relationships to other quantities.** *Ocean Science*. 10(2):177–199, 2014.

ABESSA, D. M. de S.; et al. **Physiological and cellular responses in two populations of the mussel *Perna perna* collected at different sites from the coast of São Paulo, Brazil.** *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48(2): 217-225, 2005.

ALEXANDER DE. **Bioaccumulation, bioconcentration, biomagnification.** *Environmental Geology*. Dordrecht: Springer Netherlands; 1999. p. 43–4.

AMARAL, V. S. **Estudo morfológico comparativo de espécies do gênero *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) do Atlântico Norte.** Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

(AAPA) American Association for Port Authorities. **Environmental management handbook.** Alexandria, VA: AAPA, 1998.

ANDREWS, J. D. Pelecypoda: Ostreidae. In: GIESE, A. C.; PEARSE, J. S. **Reproduction of Marine Invertebrates.** New York Academic Press; 1979. p. 293-341.

APETI, D. A.; JOHNSON, E.; ROBINSON, L. **A Model for Bioaccumulation of Metals in *Crassostrea virginica* from Apalachicola Bay, Florida.** *American Journal of Environmental Sciences*. 1:239-248, 2005.

ARIAS, A. H. et al. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in water, mussels (*Brachidontes* sp., *Tagelus* sp.) and fish (*Odontesthes* sp.) from Bahía Blanca Estuary, Argentina.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 85(10):67-81, 2009.

AZEVEDO, L.A.C. **Determinação de Hidrocarbonetos em Amostras de Água e Mexilhões da Baía de Guanabara.** Dissertação (Mestrado) – Departamento de Química. Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, 1998.

BANJOO, D. **Assessment of biota quality in the Gulf of Paria: hydrocarbon component.** Institute of Marine Affairs. 2006. Disponível em: http://www.ima.gov.tt/home/images/pdf/assessment_of_biota_quality_2006.pdf. Acesso em: 10 de agosto de 2021.

BAPTISTA-NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M. & PATCHINEELAM, S. **Poluição Marinha**. 1ed. Rio de Janeiro: Interciência; 2008. 412 p.

BARAJ, B. et al. **Trace metal content trend of mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758) from the Atlantic coast of southern Brazil**. *Water, Air & Soil Pollution*. 145:205-214, 2003.

BARLETTA, M.; LIMA, A. R. A.; COSTA, M. F. **Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in South American estuaries**. *Science of the Total Environment*. 651:1199–1218, 2009.

BAUMARD, P.; et al. **Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability**. *Marine Environmental Research*. 47:415-439, 1999.

BAUMARD, P.; et al. **Concentrations of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in Various Marine Organisms in Relation to those in Sediments and to Trophic Level**. *Marine Pollution Bulletin*. 36(12):951-960, 1998.

BEEBY, A. **What sentinels stand for?** *Environmental Pollution*. 112:285-298, 2001.

BENOIT, G.; et al. Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al, and Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Marine Chemistry*. 45:307-336, 1994.

BOEHM, P. D.; et al. **A chemical investigation of the transport and fate of petroleum hydrocarbons in littoral and benthic environments: the Thesis oil spill**. *Marine Environmental Research*. 6:157-188, 1982.

BOEHM, P. D. & QUINN, J. G. **The persistence of chronically accumulated hydrocarbons in the hard-shell clam *Mercenaria***. *Marine Biology*. 44:227-233, 1977.

BOETHLING, R. S. & MACKAY, D. **Handbook of property estimation methods for chemicals**. *Environmental Health Sciences*. CRC press; 2000.

BOYLE, E. A.; EDMOND, J. M.; SHOLKOVITZ, E. R. **The mechanism of iron removal in estuaries**. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 41(9):1313-1324, 1977.

BRAGA, E. S.; et al. **Eutrophication and Bacterial Pollution Caused by Industrial and Domestic Wastes at the Baixada Santista Estuarine System – Brazil.** Marine Pollution Bulletin. 40(2):165–173, 2000.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 357, DE 17 de março de 2005.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicada no Diário Oficial da União (DOU) nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63. Ministério do Meio Ambiente, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Saúde (ANVISA). Instrução Normativa (IN) nº 88, de 26 de março de 2021. Estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. Publicada no Diário Oficial da União. Ministério do Meio Ambiente, 2021.

BROMAN, D.; et al. **An in situ study on the distribution, biotransformation and flux of polycyclic aromatic hydrocarbons (pahs) in an aquatic food chain (seston-Mytilus edulisL.-Somateria mollissimaL.) from the baltic: An ecotoxicological perspective.** Environmental Toxicology and Chemistry. 9(4):429-442, 1990.

BURUAEM, L. M.; et al. **Integrated quality assessment of sediments from harbour areas in Santos-São Vicente Estuarine System, Southern Brazil.** Estuarine, Coastal and Shelf Science. 130(20):179-189, 2013.

CAMACHO, A. P.; LABARNA, U.; BEIRAS, R. **Growth of mussel Mytilus edulis galloprovincialis on cultivation rafts: influence of seed source, cultivation site and phytoplankton availability.** Aquaculture.138:349-362, 1995.

CAMPOLIM, M. B.; et al. **Metal trace elements in mussels in Urubuqueçaba Island, Santos Bay, Brazil.** Pesquisa Agropecuária Brasileira. 52(12):1131-1139, 2017.

CATHARINO, M. G. M.; et al. **Biomonitoring of Hg, Cd, Pb and other elements in coastal regions of São Paulo State, Brazil, using the transplanted mussel Perna perna (Linnaeus, 1758).** Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 278:547-551, 2008.

(CEFAS) Center for Environment Fisheries & Aquaculture Science. A Critical Review of the Current Evidence for the Potential Use of Indicator Species to Classify UK Shellfish Production

Areas. 2014. Disponível em: https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/865-1-1607_FS512006_VMcFarlane.pdf. Acesso em 13 de julho de 2021.

(CETESB) Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo**. Série relatórios, p.4-7, 2009.

(CETESB) Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Poluição das Águas no Estuário e Baía de Santos**. Relatório Técnico CETESB. Volume I. 71p. 1979.

(CETESB) Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Contaminantes na Bacia do rio Cubatão e seus Reflexos na Biota Aquática**. Relatório Técnico CETESB. 81p. 1990.

CHAKRABORTY, S.; et al. **Oxygen isotope fractionation in the vacuum ultraviolet photodissociation of carbon monoxide: Wavelength, pressure, and temperature dependency**. The Journal of Chemical Physics. 137(2):024309, 2012.

CHANDURVELAN, R.; et al. **Waterborne cadmium impacts immunocytotoxic and cytogenotoxic endpoints in green-lipped mussel, *Perna canaliculus***. Aquatic Toxicology. 142-143:283-293, 2013.

CHANDURVELAN, R.; et al. **Impairment of green-lipped mussel (*Perna canaliculus*) physiology by waterborne cadmium: relationship to tissue bioaccumulation and effect of exposure duration**. Aquatic Toxicology. 125:114-124, 2012.

CHAPMAN, P. M.; et al. **Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation**. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 55:2221–2243, 1998.

CHRISTO, S. W. **Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea sacco*, 1897 na baía de Guaratuba (Paraná – Brasil): um subsídio ao cultivo**. Tese (Doutorado) – Curso de Zoologia. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

CHU, B.; et al. **Effects of salinity on the transformation of heavy metals in tropical estuary wetland soil**. Chemistry and Ecology. 31(2):186-198, 2015.

CLOERN, J. E. **Why large cells dominate estuarine phytoplankton.** *Limnology and Oceanography.* 63(1):392–409, 2017.

COSSON, R. P. & AMIARD, J. C. **Use of metallothioneins as biomarkers of exposure to metals.** In **Use of Biomarkers for Environmental Quality Assessment**, edited by L. Lagadic, T. Caquet, J. C. Amiard and F. Ramade (Enreld, New Hampshire: Science Publishers, Inc.); 2000. p. 79-111.

DAI, M. H. & MARTIN, J. M. **First data on trace metal level and behaviour in two major Arctic river–estuarine systems (Ob and Yenisey) and in the adjacent Kara Sea, Russia.** *Earth and Planetary Science Letters.* 131:127–141, 1995.

DANCEY, C. & REIDY, J. **Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para 285 Windows.** Porto Alegre, Artmed; 2006. 608 p.

DAVIS, J. D. & MACKNIGHT, S. **Environmental Considerations for Port and Harbor Developments.** USA: World Bank Technical; 1990. 134 p.

DAY JR., J. W.; et al. **Estuarine Ecology.** John Wiley e Sons: New York; 1987. 558 p.

DE SOUZA, M. M.; WINDMÖLLER, C. C.; HATJE, V. **Shellfish from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil: Treat or threat?** *Marine Pollution Bulletin.* 62(10):2254-63, 2011.

DE JESUS, S. B. & CRUZ, M. J. M. **Caracterização Geoquímica do Estuário do Rio Una, Ba, Brasil.** *Geochimica Brasiliensis.* 33(3):286–302, 2019.

DIOP, M.; et al. **Avaliação da contaminação por oligoelementos e bioacumulação em algas (*Ulva lactuca*), mexilhões (*Perna perna*), camarões (*Penaeus kerathurus*) e peixes (*Mugil cephalus*, *Sarotherondon melanotheron*) ao longo da costa senegalesa.** *Marine Pollution Bulletin.* 103(1-2):339-343, 2016.

DU LAING, G.; et al. **Effect of Salinity on Heavy Metal Mobility and Availability in Intertidal Sediments of the Scheldt Estuary.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science.* 77:589-602, 2008.

EL NEMR, A.; et al. **Distribution and ecological risk assessment of some heavy metals in coastal surface sediments along the Red Sea, Egypt.** *International Journal of Sediment Research.* 31(2):164-172, 2016.

^aEL NEMR, A.; KHALED, A.; EL SIKAILY A. **Metal Pollution in Surface Sediments along Egyptian Mediterranean Coast.** Blue Biotechnology Journal. 1(1):113-140, 2012.

^bEL NEMR, A.; et al. **Risk probability due to heavy metals in bivalve from Egyptian Mediterranean coast.** The Egyptian Journal of Aquatic Research. 38(2):67-75, 2012.

ENGEL, D. W. **Accumulation and cytosolic partitioning of metals in the american oyster *Crassostrea virginica*.** Marine Environmental Research. 47:89-102, 1999.

(EPAGRI) Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural do Estado de Santa Catarina. **Síntese informativa da produção de moluscos (mexilhões, ostras e vieiras) no estado de Santa Catarina em 2006.** 2007.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia.** 3 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. p. 523-642.

EYSINK, G.G.J.; et al. **Contaminants in the Cubatão River basin and its Estuary (SP, Brazil), relating to the Aquatic Biota.** Part 1. Heavy Metals, arsenic and Cyanide. 11th Biennial International Estuarine Research Conference - San Francisco USA. Session: Inputs and Cycling of Natural and Contaminant Materials in Estuaries; 1991.

(FAO) Food and Agriculture Organization. **Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed.** Codex Standard 19; 1995. Disponível em: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf. Acesso em: 05 de maio de 2021.

FARRINGTON J. W.: et al. **Goldberg's proposal of “the mussel watch”: reflections after 40 years.** Marine Pollution Bulletin. 110(1):501-510, 2016.

FERREIRA DO NASCIMENTO, J. E.; et al. **Variação Sazonal De Parâmetros Físico-Químicos Na Porção Estuarina Do Município De Raposa - MA.** Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente. 8(2):257–271, 2020.

FERREIRA, M.; et al. **Contaminação por metais traço em mexilhões *Perna perna* da costa brasileira.** Ciência Rural. 43(6):1012-1020, 2013.

FERREIRA, J. F. & MAGALHÃES, A.R.M. **Cultivo de mexilhões**. In: POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. (Org.). *Aquicultura: experiências brasileiras*. Florianópolis, SC: Multitarefa; 2004. p.221-250.

FONSECA, E. M.; et al. **Study of pollutant distribution in the Guaxindiba Estuarine System-SE, Brazil**. *Marine Pollution Bulletin*. 82(1-2):45-54, 2014.

FRANCIONI, E.; et al. **Biomonitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in *Perna perna* from Guanabara Bay, Brazil**. *Environmental Forensics*. 6(4):361–370, 2005.

FREITAS, R. R. **Aqüicultura aliada ao turismo como alternativa de lazer e fonte de renda**. *Caderno Virtual de Turismo*. 6(4):48-54, 2006.

FREITAS, R.; et al. **The influence of Arsenic on the toxicity of carbon nanoparticles in bivalves**. *Journal of Hazardous Materials*. *J Hazard Mater*. 358:484-493, 2018.

FUNG, C.N.; ET al. **Mussel-based monitoring of trace metal and organic contaminants along the east coast of China using *Perna viridis* and *Mytilus edulis***. *Environmental Pollution*. 127(2):203-216, 2004.

FURLAN, E. F. **Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos**. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

GALVÃO, P. M. A.; et al. **Bioacumulação de metais em moluscos bivalves: aspectos evolutivos e ecológicos a serem considerados para a biomonitoração de ambientes marinhos**. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*. 13(2):59-66, 2009.

GERBER K. **User's guide and technical documentation KABAM version 1.0 (Kow (based) Aquatic Bioaccumulation Model)**. Report of Environmental Fate and Effects Division Office of Pesticide Programs, US Environmental Protection Agency, Washington, DC; 2009.

(GESAMP) Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution. **Impact of Oil and Related Chemicals and Wastes on the Marine Environment**. Rep. Stu. GESAMP (50); 1993. 180 p.

(GESAMP) **Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. Estimates of oil entering the marine environment from sea-based activities.** Rep. Stud. GESAMP (75); 2007. 96 p.

GONÇALVES, R.; FREIRE, G.; NASCIMENTO, V. **Determinação das concentrações de cádmio, cobre, cromo, e zinco, nas ostras *Crassostrea rhizophorae* dos estuários dos rios Cocó e Ceará.** Revista de Geologia. 20(1):57-63, 2007.

GONTIJO, E. S. J.; MONTEIRO, A. S. C.; ROSA, A. H. **Especiação de Metais e Metaloides em Ambientes Aquáticos: Conceitos, Técnicas e Aplicações.** Revista Virtual de Química. 9(5):1910-1929, 2017.

WEN-XIONG, W. & GUANGYUAN, L. **Heavy Metals in Bivalve Mollusks.** Chemical Contaminants and Residues in Food. p. 553-594, 2017.

HARADA, M. **Minamata Disease: Methylmercury Poisoning in Japan Caused by Environmental Pollution.** Critical Reviews in Toxicology. 25(1):1–24, 1995.

HENRIQUES, M. B. **Resistência do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) provenientes de bancos naturais da baixada santista, a variações de temperatura, salinidade, tempo de exposição ao ar e determinação da incidência de parasitismo.** Tese de (Doutorado) – Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, São Paulo, 2004.

HIERRO, A.; et al. **Trace metal partitioning over a tidal cycle in an estuary affected by acid mine drainage (Tinto estuary, SW Spain).** Science of the Total Environment. 497–498:18–28, 2014.

HORTELLANI, M. A., et al. **Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do estuário Santos – São Vicente.** Química Nova. 31(1):10-19, 2008.

HOSSAIN, M. B.; AHMED, A. S. S.; SARKER, M. S. I. **Human health risks of Hg, As, Mn, and Cr through consumption of fish, Ticto barb (*Puntius ticto*) from a tropical river, Bangladesh.** Environmental Science and Pollution Research. 25:31727–31736, 2018.

HUNTER, K. A. **On the estuarine mixing of dissolved substances in relation to colloid stability and surface properties.** Geochimica et Cosmochimica Acta. 47:467–473, 1983.

INGLOT, P.; et al. **Cadmium-induced changes in genomic DNA-methylation status increase aneuploidy events in a pig Robertsonian translocation model.** *Mutation Research.* 747:82–189, 2012.

(IARC) INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER – Agents classified by the IARC monographs. Lyon: IARC; 2013.

ISOBE, T.; et al. **Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and phenolic endocrine disrupting chemicals in South and Southeast Asian mussels.** *Environmental Monitoring and Assessment.* 135(1-3):423-40, 2008.

ITO, K.; et al. **Distribution of Parent and Alkylated PAHs in Bivalves Collected from Osaka Bay, Japan.** *Japanese Journal of Environmental Toxicology.* 18(2):11-24, 2015.

JACK, I. R.; et al. **Determination of total hydrocarbons levels in some marine organisms from some towns within the Rivers State of Nigeria.** *Journal of Applied Sciences and Environmental Management.* 9(3):59–61, 2005.

JIA, H.; et al. **Distribution and Potential Human Risk of Organochlorine Pesticides in Market Mollusks from Dalian, China.** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 84(3):278-84, 2010.

Kanhai, L. D. K.; et al. **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Crassostrea rhizophorae and Cathorops spixii from the Caroni Swamp, Trinidad, West Indies.** *Environmental Science and Pollution Research.* 22:1366–1379, 2015.

KEHRIG, H. A.; et al. **Total and methyl mercury in different species of molluscs from two estuaries in Rio de Janeiro State.** *Journal of the Brazilian Chemical Society.* 17:1409-1418, 2006.

KELLY, B. C.; et al. **Food web–specific biomagnification of persistent organic pollutants.** *Science.* 317(5835):236–9, 2007.

KHAN, M. D.; MASIOL, M.; ANGELIKA, P. B. Livro: PHEs, Environment and Human Health. Cap: 2 - **Harmful Elements in Estuarine and Coastal Systems.** Publisher: Springer Netherlands. Editors: Claudio Bini, Jaume; 2014.

KHATI, W.; et al. **Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring**. Energy Procedia. 18:784-794, 2012.

KIM, E.; et al. **Chronic exposure to cadmium alters gut immune homeostasis and innate immunity (MUC8P. 810)**. The Journal of Immunology. 192(1) 198.11, 2014.

KIMBROUGH, K. L.; et al. **An assesment of two decades of contaminant monitoring in the nation's coastal zone**. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 74. Silver Spring, M. D.; 2008. 105 p.

KLIMANATURALI. **Figura do Mexilhão *Perna perna***. Disponível em: <http://www.klimanaturali.org/2011/06/mexilhao-perna-perna.html>. Acesso em: 20 de abril de 2021.

KOELMANS, A. A.; et al. **Risks of plastic debris: Unravelling fact, opinion, perception, and belief**. Environmental Science & Technology. 51(20):11513–9, 2017.

KUMAR, V., et al. **Linking environmental heavy metal concentrations and salinity gradients with metal accumulation and their effects: A case study in 3 mussel species of Vitória estuary and Espírito Santo bay, Southeast Brazil**. Science of Total Environment. 1(523):1-15, 2015.

LACERDA, L. D.; et al. **Mercury concentration in fish from the Itacaiunas-Paraopebas River System, Carajás region, Amazon**. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 3:66-72, 1994.

LAMPARELLI, M. et al. **Sistema Estuarino de Santos e São Vicente**. 2001. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/276918805_Sistema_Estuarino_de_Santos_e_Sao_Vicente. Acesso em: 01 de julho de 2020.

LAWS, E. A. **Aquatic Pollution: an introductory text**. 3rd ed. John Wiley & Sons, USA; 2000. 639 p.

LIN, S. & HSIE, I. J. Y. **Occurrences of green oyster and heavy metals contaminant levels in the Sien-San Area, Taiwan**. Marine Pollution Bulletin. 38:960-965, 1999.

LINO, A.S.; et al. **Metal bioaccumulation in consumed marine bivalves in southeast Brazilian coast**. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 34, 50-55, 2016.

LOURENÇO, R.; et al . **Comparação Entre Técnicas De Extração De Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Em Tecidos Hepático E Adiposo De Tetrápodes Marinhos E Avaliação Da Heterogeneidade Dos Tecidos.** Química Nova. 42(2):197-205, 2019.

WANILSON, L. S.; et al. 2006. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/202405/1/S0100-40422006000200016.pdf>. Acesso em: 23 de maio de 2021.

MAGALHÃES, D. DE P.; et al. **Metal bioavailability and toxicity in freshwaters.** Environmental Chemistry Letters. 13:9–87, 2015.

MAHER, B.; et al. **Bioaccumulation. Sediment quality assessment: a practical guide.** CSIRO Publishing; 2016, p. 123-56.

MAIOLI, O. L. G.; et al. **Polycyclic aromatic and aliphatic hydrocarbons in *Mytella charruana*, a bivalve mollusk from Mundaú Lagoon, Brazil.** Microchemical Journal. 97(1):172-179, 2010.

MANZONI, G. C. **Cultivo de mexilhões *Perna perna*: evolução da atividade no Brasil e avaliação econômica da realidade de Santa Catarina.** Tese (Doutorado) – Centro de Aqüicultura. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 2005.

MARCHI, G.; et al. **Elementos traços e sua relação com a qualidade e inocuidade de fertilizantes, corretivos agrícolas e resíduos orgânicos no Brasil.** Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Embrapa Cerrados Planaltina-DF. Abril 2009. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2010/31582/1/doc-252.pdf>. Acesso em: 24 de setembro de 2021.

MCLUSKY, D.S.; BRYANT, V.; CAMPBELL. R. **The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates.** Oceanography and Marine Biology. 24:481-52, 1986.

MENEZES, G.V.; et al. **Manguezais: Projeto de revegetação na Baixada Santista SP, Brasil. In Primeiro Simpósio Nacional de Recuperação de Áreas Degradadas, Foz do Iguaçu, Anais.** Foz do Iguaçu; 1994. 487- 498.

EYSENCK, M. W. & DERAKSHAN, N. **Cognitive biases for future negative events as a function of trait anxiety and social desirability.** *Personality and Individual Differences.* 22(5):597-605, 1997.

MILLWARD, G.E. & LIU, Y.P. **Modelling metal desorption kinetics in estuaries.** *Science of the Total Environment.* 314-316:613-623, 2003.

MOREIRA L. B. & ABESSA D. **Water toxicity assessment of Santos Bay under different climate conditions.** *Ecotoxicology and Environmental Contamination.* 9(1):51-57, 2014.

MOSCHINO, V.; et al. **Biomonitoring approach with mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) and clam *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) in the Lagoon of Venice.** *Environmental Monitoring and Assessment.* 177:649–63, 2011.

MOSER, O. G. A.; et al. **Instantaneous transport of salt, nutrients, suspended matter 320 and chlorophyll-a in the tropical estuarine system of Santos.** *Brazilian Journal of Oceanography.* 53(3-4):115-127, 2005.

MUBIANA, V. K.; VERCAUTEREN, K.; BLUST, R. **The influence of body size, condition index 359 and tidal exposure on the variability in metal bioaccumulation in *Mytilus edulis*.** *Environmental Pollution.* 144:272-279, 2006.

MUNDO ECOLOGIA. **Figura da Ostra *Crassostrea rhizophorae*.** Disponível em: <https://www.mundoecologia.com.br/animais/ostra-do-mangue-caracteristicas-nome-cientifico-e-fotos/>. Acesso em: 20 de abril de 2021.

MUTO, E.Y.; et al. **Trophic Groups of Demersal Fish of Santos Bay and Adjacent Continental Shelf, São Paulo State, Brazil: Temporal and Spatial Comparisons.** *Brazilian Journal of Oceanography.* 62(2):89-102, 2014.

NAIDU, R.; et al. **Ionic-strength and pH effects on the sorption of cadmium and the surface charge of soils.** *European Journal of Soil Science.* 45(4):419–429, 1994.

NAKATA, P. A. **Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants.** *Plant Science.* 164(6):901–909, 2003.

NASCIMENTO, I. A. **Cultivo de ostras no Brasil: Problemas e perspectivas.** *Ciência e Cultura.* 35(7):871-876, 1983.

NASCIMENTO, I. A. & PEREIRA, S. A. **Cultivo da ostra de mangue *Crassostrea rhizophorae*** (Guilding, 1828). POLI, C. R., POLI, A. T., ANDREATTA, E. e BELTRAME, E. **Aqüicultura: Experiências Brasileiras**. UFSC – Multitarefa Editora LTDA; 2004. p. 267-288.

NASCIMENTO, I. A. et al. **Desenvolvimento da gônada primária em ostras do mangue *Crassostrea rhizophorae*: idade e tamanho mínimo de maturação sexual**. *Ciência e Cultura*.32(6):736-742, 1980.

NEFF, J. M. **Bioaccumulation in marine organisms: effect of contaminants from oil well produced water**. Coastal Resources and Environmental Management Duxbury, Massachusetts USA; 2001.

NICE, H. E. & FISHER, S. J. **Ecotoxicological and Bioaccumulation Investigations of the 365 Swan Estuary in the Vicinity of Claisebrook**. Water Science and Technology; 2011.

NOGUEIRA, L.; et al. **Avaliação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) na Baía de Guanabara utilizando mexilhões *Perna perna* (L.)**. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2 FIOCRUZ. Rio de Janeiro. Brasil. 2017.

O'CONNOR, T. P. **Mussel Watch: Recent Trends in Coastal Environmental Quality**. Silver Spring, MD: National Oceanic and Atmospheric Administration, 46. 1992.

ORESCANIN, V., et al. **Biomonitoring of heavy metals and arsenic on the east coast of the Middle Adriatic Sea using *Mytilus galloprovincialis***. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. 245(2):495–500, 2006.

PAGE, D.S.; et al. **Mussels document loss of bioavailable polycyclic aromatic hydrocarbons and the return to baseline conditions for oiled shorelines in Prince William Sound, Alaska**. *Marine Environmental Research*. 60:422-436, 2005.

PAN, K. & WANG, W. X. **Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China**. *Science of the Total Environment*. 421:3-16, 2012.

PAN, J. & WANG, W. **Comparação da biodisponibilidade de Cr e Fe ligados a coloides naturais de origens diferentes e tamanho para dois bivalves marinhos.** Marine Biology. 141:915–924, 2002.

PEREIRA, C. D. S.; et al. **Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in mussels from São Sebastião, São Paulo, Brazil.** Environmental Toxicology and Chemistry. 26(3):462-469, 2007.

PEREIRA, O. M.; HENRIQUES, M. B.; MACHADO, I. C. **Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliana* em bosques de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil.** Boletim do Instituto de Pesca. 29(1):19-28, 2003.

PEREIRA, R. & SOARES, A. **Biologia Marinha.** Rio de Janeiro: Interciência. 2002. 382 p.

PINOT, F. et al. **Cadmium in the environment: sources, mechanisms of biotoxicity, and biomarkers.** Reviews on Environmental Health. 15:299–323, 2000.

POFFO, I. R.; et al. **Educação ambiental junto com os pescadores e seus filhos na recuperação de manguezais degradados.** Anais do IV Simpósio de Ecossistemas Brasileiros. Águas de Lindóia, SP. Pub. Aciesp Vol. III; 1998.

POLI, C. R. **Cultivo de ostras do pacífico (*Crassostrea gigas*, 1852).** In: POLI, C. R.; POLI, A. T.; ANDREATTA, E. e BELTRAME, E. Aquicultura: Experiências Brasileiras. UFSC – Multitarefa editora LTDA; 2004. p. 251 – 266.

POLI, C. R., & ARANA, L. V. **Qualidade de água em aquicultura.** In: POLI, Carlos Rogério et al. Aquicultura Experiências Brasileiras. Florianópolis: Multitarefa Editora Ltda. 2004. p. 45-71.

PYTHAROPOULOU, S.; et al. **Cádmio versus toxicidade de cobre: insights de uma dissecação integrada da via de síntese de proteínas nas glândulas digestivas do mexilhão *Mytilusgallo provincialis*.** Journal of Hazardous Materials. 260:263-271, 2013.

QUALIDADE DA ÁGUA. Publicado em 22/09/2015. Disponível em: <https://tratamentodeagua.com.br/artigo/qualidade-da-agua/>. Acesso em: 05 de março de 2021.

RAINBOW, P.; ET al. **Trophic transfer of trace metals from the polychaete worm *Nereis diversicolor* to the polychaete *N. virens* and the decapod crustacean *Palaemonetes varians*.** Marine Ecology Progress Series. 321:167–181, 2006.

RAINBOW, P. S. **Physiology, physicochemistry and metal uptake: a crustacean perspective.** Marine Pollution Bulletin. 31(1- 3):55-59, 1995.

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

RAMOS, A. **Presença e Tipologia de HPAs em moluscos bivalves de Santa Catarina e Rio de Janeiro, Brasil.** Dissertação (Mestrado) - Centro de Tecnologia e Ciências, Faculdade de Oceanografia. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2016.

REICHEL-T-BRUSHETT, A. & HARRISON, P. **The effect of copper, zinc and cadmium on fertilization success of gametes from scleractinian reef corals.** Marine Pollution Bulletin. 38:182–187, 1999.

RESGALLA JUNIOR, C., & SALOMÃO, L. C. **Taxas fisiológicas e potencial do crescimento do mexilhão de cultivo *Perna perna* (L).** Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

RIOS, E. C. **Seashells of Brazil.** Rio Grande, RS, Ed. Fundação Universidade Rio Grande, 368 p. 2014.

ROESIJADI, G. **Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals.** Aquatic Toxicology. 22:81-114, 1992.

ROJAS DE ASTUDILLO, L.; CHANG, YEN, I.; BEKELE, I. **Heavy metals in sediments, mussels and oysters from Trinidad and Venezuela.** Revista de Biología Tropical. 53:41-51, 2005.

ROSS, J. L. S., & MOROZ, I. C. **Mapa Geomorfológico do Estado de São Paulo.** Revista do Departamento de Geografia. 41–58, 2011.

RUBIO-CLEMENTE, A.; TORRES-PALMA, R. A.; PEÑUELA, G. A. **Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous environment by chemical treatments: a review.** Science of the Total Environment. 478:201–225, 2014.

RUELAS-INZUNZA, J. & PÁEZ-OSUNA, F. **Barnacles as Biomonitors of Heavy Metal Pollution in the Coastal Waters of Mazatlán Harbor (Mexico).** Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 61:608–615, 1988.

RUPPERT, E. E.; FOX, R.S.; BARNES, R. D. **Esponjas e Placozoários. In: Zoologia dos Invertebrados.** 6.ed. São Paulo: Roca; 1996, p. 67-93.

SAAVEDRA, Y.; et al. **The effect of size on trace metal concentrations in raft cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*).** Science of the Total Environment. 318:115-124, 2004.

SAGLAM, D.; ATLI, G.; CANLI, M. **Investigations on the osmoregulation of freshwater fish (*Oreochromis niloticus*) following exposures to metals (Cd, Cu) in differing hardness.** Ecotoxicology and Environmental Safety. 92:79-86, 2013.

SALGADO-RAMÍREZ, C. A.; MANSILLA-RIVERA, I.; & RODRÍGUEZ-SIERRA, C. J. **Comparison of trace metals in different fish tissues of *Scomberomorus* spp. (Bsierra) and *Lutjanussynagris* (Barrayado) from Jobos Bay and La Pargueracoastal areas in Southern Puerto Rico.** Regional Studies in Marine Science. 13:1–11, 2017.

SALOMONS, W. & FÖRSTNER, U. **Metals in the hydrocycle.** Berlin: Springer-Verlag; 1984. 349 p.

SANDERS, C.J.; et al. **Dissolved iron exports from an estuary surrounded by coastal wetlands: Can small estuaries be a significant source of Fe to the ocean?** Marine Chemistry. 176:75-82, 2015.

SANTOS, E. S.; CUNHA, A. C.; CUNHA, E. D. S. **Análise espaço-sazonal da qualidade da água na zona flúvio-marinha do Rio Araguari-Amazônia Oriental-Brasil.** Revista Brasileira de Recursos Hídricos. 19(3):81-95, 2014.

SANTOS, M. F. **Impactos ambientais no estuário do rio Formoso a partir da confluência dos rios Ariquindá/Formoso, Tamandaré (PE).** 2002. Dissertação (Mestrado). Programa de

Pós-Graduação em Gestão e Políticas Ambientais, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

SANTOS, M. L.; et al. **Influence of de Amazon and Para Rivers on Water Composition and Phytoplankton Biomass of the adjacent Shelf.** Journal of Coastal Research. 24(3):585-593, 2008.

SANTOS, J. S. B. **Viabilidade da farinha de conchas de mexilhões dourados na avicultura.** Trabalho de Conclusão de Curso. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia. 2014.

SATARUG, S.; et al. **A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population.** Toxicology Letters. 137:65–83, 2003.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Perfil dos ecossistemas litoraneos brasileiros, com especial ênfase sobre o ecossistema manguezal.** Publicação Especial do Instituto Oceanografico, São Paulo, 7:1-16, 1989.

SCULLY, M. E. & GEYER, W. R. **The Role of Advection, Straining, and Mixing on the Tidal Variability of Estuarine Stratification.** Journal of Physical Oceanography. 42:855–868, 2012.

(SEBRAE) Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Ostreicultura: Manual de Boas Práticas: Qualidade e Segurança para Bons Negócios.** Projeto Estruturante Aqui Nordeste. Aquicultura no Nordeste. Brasília, 2015. 54 p.

SEMMLER, M. G. M. C. **Biomonitoração de Hg, Cd, Pb e outros elementos em áreas costeiras do estado de São Paulo por meio do mexilhão transplantado *Perna perna* (Linnaeus, 1758).** 140 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

SHEIK, C. S.; et al. **Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure.** PLoSONE. 7(6):e 40059, 2012.

SHIRNESHAN, G. & BAKHTIARI, A. R. **Accumulation and distribution of Cd, Cu, Pb and Zn in the soft tissue and shell of oysters collected from the northern coast of Qeshm Island, Persian Gulf, Iran.** Chemical Speciation and Bioavailability. 24(3):129-138, 2012.

SHULKIN, V. M.; PRESLEY, V. I.; KAVUN, V. L. A. **Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments.** Environment International. 29:493-502, 2003.

SIEGEL F .R. **Environmental geochemistry of potentially toxic metals.** Springer, Berlim, 2002. 218 p.

SILVA, O. R. & GOMES, M. B. M. **Impactos das atividades portuárias no sistema estuarino de Santos.** Revista Metropolitana de Sustentabilidade. 2(2):1-18, 2012.

SINGH, R.; et al. **Heavy metals and living systems: an overview.** Indian Journal of Pharmacology. 43:246-253, 2011.

SKARPHEDINSDOTTIR, H.; et al. **DNA adultos e níveis de tecido de hidrocarboneto aromático policíclico (PAH) em mexilhões azuis (*Mytilus spp.*) de locais costeiros nórdicos.** Marine Environmental Research. 64:479–491, 2007.

SOTO-JIMENEZ, M.; PAEZ-OSUNA, F.; MORALES-HERNANDEZ, F. **Selected trace metals in oysters (*Crassostrea iridescens*) and sediments from the discharge zone of the submarine sewage outfall in Mazatlán Bay (southeast Gulf of California): chemical fractions and bioaccumulation factors.** Environmental Pollution. 114:357-370, 2001.

STEGEMAN, J. J.; TEAL, J. M. **Accumulation, release and retention of petroleum hydrocarbons by the oyster *Crassostrea virginica*.** Marine Biology. 22:37-44, 1973.

TANAKA, H. & ONDUKA, T. **Background Levels of PAHs in the coastal waters of Japan based on residual concentrations of bivalves.** Journal of Environmental Chemical. 20:137-48, 2010.

TANGUY, A.; et al. **Metallothionein genes in the European flat oyster *Ostrea edulis*: a potential ecological tool for environmental monitoring.** Marine Ecology Progress Series. 257:87-97, 2003.

TCHOUNWOU, P. B.; PATLOLLA, A. K.; CENTENO, J. A. **Carcinogenic and systemic health effects associated with arsenic exposure-a critical review.** Toxicologic Pathology. 31(6):575–588, 2003.

TOMMASI, L. R. **Considerações ecológicas sobre o sistema estuarino de Santos (SP)**. Tese (Livre-Docência). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, 1979.

TORRES, R. J.; et al. **Effects of dredging operations on sediment quality: contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil**. *Journal of Soils and Sediments*. 9, 420–432, 2009.

TREVISAN, R.; et al. **Gills as a glutathione-dependent metabolic barrier in Pacific oysters *Crassostrea gigas*: Absorption, metabolism and excretion of a model electrophile**. *Aquatic Toxicology*. 173:105-119, 2016.

TURECK, C. R.; et al. **Avaliação da Concentração de Metais Pesados em Tecido de Ostras *Crassostrea Gigas* (molusca, bivalve) cultivadas na baía da babitonga, litoral norte de Santa Catarina**. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*. 16:1-10, 2006.

(USEPA) United States Environmental Protection Agency. **Guidelines for Exposure Assessment**. In: Agency USEP, editor. Washington, D.C. p. 126. 1992.

(US EPA) United States Environmental Protection Agency. **Locating and estimating air emissions from sources of polycyclic organic matter**. North Carolina: EPA-454/R-98/014EPAGRI. 1998.

VÉLEZ, A. **Crecimiento, edad y madurez sexual del ostión *Crassostrea rhizophorae* de Bahía de Mochima**. *Boletín Instituto Oceanográfico Universidad del Oriente*. 15(1):65-72, 1976.

VIARENGO, A.; et al. **A Biomonitoring Study Assessing the Residual Biological Effects of Pollution Caused by the HAVEN Wreck on Marine Organisms in the Ligurian Sea (Italy)**. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 53:607-616, 2007.

VIEIRA, K. S.; et al. **Human health risk assessment associated with the consumption of mussels (*Perna perna*) and oysters (*Crassostrea rhizophorae*) contaminated with metals and arsenic in the estuarine channel of Vitória Bay (ES), Southeast Brazil**. *Marine Pollution Bulletin*. 172:112877, 2021.

WANG, J. D.; et al. **The behaviors of microplastics in the marine environment**. *Marine Environmental Research*. 113:7–17, 2016.

WELTENS, R.; GOOSSENS, R.; VAN PUymbROECK, S. **Ecotoxicity of contaminated suspended 424 solids for filter feeders (*Daphnia magna*)**. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 39:315–323, 2000.

(WHO) World Health Organization. **Hazardous Chemicals in Human and Environmental Health**. 16 August 2002^a.

(WHO) World Health Organization. **International Programme on Chemical Safety (IPCS) Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons**. Geneva. 1998 .

(WHO) World Health Organization. **Toxicological Evaluation of Certain Food Additives**. Geneva. p. 106. 1982.

YAP, C.K.; SHAHBAZI, A.; ZAKARIA, M. P. **Concentrações de metais pesados (Cu, Cd, Zn e Ni) e PAHs em *Perna viridis* coletado em águas portuárias e não marítimas no Estreito de Johore**. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 89(6):1205-10, 2012.

YOSHIMINE, R. V. & CARREIRA, R. S. **PAHs in cultured mussels *Perna perna* from a Southeastern Brazilian Bay**. Journal of the Brazilian Chemical Society. 23(8):1429-1436, 2012.

ZHANG, N.; ZANG, S.; SUN, Q. **Health risk assessment of heavy metals in the water environment of Zhalong Wetland, China**. Ecotoxicology. 23:518–526, 2014.

ANEXO A – ARTIGO 1**Comparing the concentrations of heavy metals on two bivalve species in Santos Bay/Brazil: subsidies to understanding the assimilation dynamic of bivalve contaminants**

Patricia Farias de Souza;

Khaue Silva Vieira;

Leonardo da Silva Lima;

Adriana Azevedo Netto;

Jessica de Freitas Delgado;

Thulio Righeti Corrêa;

José Antônio Baptista Neto¹;

Christine C. Gaylarde²;

Estefan Monteiro da Fonseca^{*}

¹ Postgraduate Program in Dynamics of Oceans and Earth, Fluminense Federal University, Niterói/RJ, Code 24230-971, Brazil.

² Department of Microbiology and Plant Biology, Oklahoma University, 770 Van Vleet Oval, Norman, OK, 73019, USA.

^{*}Corresponding author e-mail address: oceano25@hotmail.com - Phone number: 552126295917 - Fax: 26040214

ABSTRACT

Contaminant substances consist of chemical elements that present the potential to adversely impact the ecology of the environment, thus representing a threat to local fauna and flora. In this context, heavy metals are critical agents that, depending on the nature and level, are potentially toxic to living organisms. In order to evaluate the bioaccumulation of heavy metals in the Santos estuary and to determine the potential influence of salinity gradient on the heavy metal bioconcentration, the present study measured the concentrations of As, Cd, Pb, Cu, Cr, Fe, Ni and Zn in two bivalve species (*Crassostrea rhizophorae* and *Perna Perna*) sampled at different sites of Santos Bay, in the southeastern region of Brazil. Throughout the study, the “sentinel species” used were effective in bioaccumulating contaminants. In oysters, based on the Brazilian legislation, critical limits were exceeded for As, Zn, Cu and Cr. In the case of

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as doi: 10.1002/wer.1655

mussels, on the other hand, only for As, Zn and Cr, the critical limits were overcome. In the present study, obtained data suggested salinity as a determinant parameter in As incorporation processes of bivalve mollusks.

Keywords: *biomonitoring, heavy metals, oysters, mussels*

INTRODUCTION

Lack of sanitation, industrial stressors and land irregular occupation has resulted in the release and dispersion of pollutant compounds in coastal regions, particularly along rivers and estuarine areas. Further, these areas can represent deposit and eventual potential sources of pollutants for the trophic net, allowing harmful chemical compounds to enter the food chain and eventually pose a risk to human health (Chapman et al., 1998; Pan and Wang, 2012). Thus, it is of major significance to study the bioavailability of toxic agents, to project the ecological risks and to designate their potential sources and fates in dynamic coastal regions (Tornero and Hanke, 2016).

The monitoring of the potentially harmful compounds in the environment can respect a number of different approaches, depending on the focus of the research. Evaluating the concentrations of pollutants (e.g., heavy metals) in the environment can be achieved by direct laboratorial analysis of water and sediment matrices (see, for example, Superville et al., 2014). However, this approach has certain limitations. Analyzing metal concentrations of the water body or sediment is not sufficient to determine its toxicity. Adding biological effects to chemical knowledge provides a more effective diagnosis of environmental conditions (Munné et al. 2012). Within this context, the assessment of contamination in the target species of human nutrition represents a safer and more effective alternative.

Bioassessible toxic elements are the most dangerous pollutant group from an ecotoxicological view (Kim et al., 2015), in that they result in a potential equilibrium risk to the chain of life (Schöne and Krause Jr., 2016). Thus, the consumption of seafood contaminated by persistent chemicals can result in human health threats (Abdelghany, 2017). As a result, pollutant contamination in the tissues of organisms and its relation to human risk have been much studied (El Nemr et al., 2012a; El Nemr et al., 2012b; El Nemr et al., 2016; EL-Shenawy et al., 2016; Yan et al., 2019).

All organisms have the capacity to react to negative environmental conditions, such as anomalous

metal pollution levels, by stimulating a physiological stress behavior that changes the metabolism and redistributes the anabolic energy towards repairing the stress that caused the molecular damage (Pytharopoulou et al., 2013). Bivalve mollusk species have proven to be excellent environmental monitoring tools in coastal and estuarine ecosystems (Chandurvelan et al., 2013), because of their physiological characteristics such as sessile nature and filtration mode of feeding (Diop et al., 2016). Their incorporation of metal pollutants can result in negative biological effects (Chandurvelan et al., 2012, Chandurvelan et al., 2013) and because of their abundance and widespread distribution, bivalve mollusks have been used for decades as sentinels to monitor coastal metal pollution (Wang and Lu, 2017).

There are few studies based on laboratory assays and field research which discuss the effects of salinity on pollutant mobility and bioassimilation (Du Laing et al., 2008; Perošević et al., 2018). An even smaller fraction of these studies deals with specific organisms, yet the bioavailability of heavy metals is particular for each element and species (Griscom and Fisher, 2004).

Studies on the contamination dynamics of species in potentially polluted environments are of great importance, because they contribute significantly to the understanding of the biology, management and the dangers that these species can pose for human consumption. The present study sought to compare the concentrations of heavy metals in two species of bivalves at various salinities along the Santos estuary, aiming to improve our understanding of their metal incorporation dynamics. At the same time, concentration limits defended in the legislation were used to assess the safety of bivalve consumption.

Study Site

Santos Bay is situated in Brazil, on the central coast of southeastern São Paulo State (Figure 1). The estuaries in this region have been seriously negatively impacted since the 1950s, when the activities of the largest industrial complex in Latin America were installed in the vicinity of the city of Cubatão. Nowadays this area represents one of the most industrialized sites in Brazil, comprising about 1,100 industries and the biggest port of South America (Perina et al., 2018). As a consequence of intensive harbor activities, huge amounts of polluted sediment have been dredged up and discarded in the adjacent open ocean over many years (Lamparelli et al., 2001; Torres et al., 2009).

The region comprises the main tourist coastal area of São Paulo State; its metropolitan region encompasses nine municipalities, with Santos and São Vicente being the most heavily populated

(Mutoet al., 2014). The main beaches in the cities of São Vicente and Santos are important tourism spots during the summer (Braga et al., 2000). Marine and estuarine fisheries are another important economic activity existing in the area. Due to its economic and ecological importance, as well as the existence of environmental pollution in the area, Santos Bay has been intensely studied (Hortellani et al., 2008).

MATERIALS AND METHODS

The salinity data analyzed were acquired during a field campaign that occurred during September 2019. Salinity was evaluated at 27 sampling stations using a multiparameter Horiba U10 probe (Figure 1). Physico-chemical measurements were made at surface and bottom water depth, during the ebb and flow tides. At the same time, bivalve specimens were sampled according to site availability (Mangrove trunks, natural or artificial hard substrates, like rocks or at the base of berths). Past monitoring data were added to increase the accuracy of the physical analysis results; 2 other groups of data, corresponding to measurements in January/2018 and March/2018, were used. The averages of the 3 data groups were compared with the heavy metal concentrations determined in the bivalve tissues.

Soft tissue, up to a total of 200g per monitoring station, was extracted from mussels and oyster specimens. These samples were oven-dried at 60°C and ground to a fine powder with a porcelain pestle and mortar. The concentrations of As, Cd, Pb, Cu, Cr, Fe, Ni and Zn accumulated in the tissues were evaluated by inductively coupled plasma-mass-spectrometry (ICP-MS) according to USEPA 3051 and SMEWW 3120B (APHA 1992). The detection limits of As, Cd, Pb, Cu, Cr, Fe, Ni and Zn using ICP-MS were 0.0040, 0.05, 0.0038, 0.0067, 0.050, 0.0045, 0.0039 and 0.0461 mg/kg, respectively. Assessment of measurement quality and precision was achieved by running blank samples and certified standard materials (ERM-CE 278 mussel tissue supplied by IRMM and NIST 1566b oyster tissue supplied by NIST) alongside with the bivalve samples.

The tissue concentrations were compared with the Maximum Tolerance Limit established for human consumption by Brazilian legislation (MS Ordinance n° 685/98 and Decree n° 55.871/1965). However, this Decree does not include all toxic metals, which makes it impossible to fully compare them with the results. The legislation deals with values in wet weight and the results determined concentrations in dry weight, requiring conversion, which was performed according to Ricciardi and Bourget (1998). Where metals were not mentioned in the Brazilian law, other international references were used (WHO, 1982, European Commission Regulation,

1986; FAO, 1995; Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance, 2020).

To assess the potential relationship between the concentration of metals in oysters and mussels and the salinity values across the estuary, Pearson's correlation (r) between these variables was calculated. Values greater than 0.7 were classified as strong and significant, according to Dancey and Reidy (2006), who classify values between $r = 0.10$ to 0.30 as having a weak relationship; $r = 0.40$ moderate and $r = 0.70$ to 1 strong correlation.

RESULTS AND DISCUSSION

Most of the time, estuaries are marked by horizontal salinity gradients (Telesh and Khlebovich, 2010; Zhang et al., 2020). Salinity usually decreases from the ocean toward the head of the estuary due to freshwater discharge. The horizontal salinity variation is determinant for the estuarine circulation, which in turn plays a key role in maintaining water column stratification in this coastal environment (Scully and Geyer, 2012). Therefore, water features and organism's distribution along the estuary waterbody, from watershed to sea environment, consists of the mixing of two water sources (Cloern et al., 2017).

In the present study, a spatial salinity variation was observed in the data (Figure 2). The influence of the river water discharge was most obvious at the innermost points, where the surface salinity values reached their minimum (Figure 2), but even at the most external points the stratification was marked. Inside the estuary (sampling stations PO1 – PO13), salinity values varied between 16.63 and 22.37US at the surface water and 25.50 and 29.09US at the bottom water. In the outermost sampling stations, on the other hand, values varied between 24.10 and 29.60US and between 27.93 and 32.03US, respectively. Aguiar and Braga (2010) found similar values in their study, along the estuarine system.

According to Moser et al. (2005), not only the river discharge but also the local climatology of Santos Bay has a decisive influence on the physico-chemical parameters variation as in the case of salinity of the estuarine system, generating great variability through the ebb and flow tides and promoting an intense stratification of the water column, especially in the Santos channel (Figure 2).

Bivalves are a popular raw food in Santos and São Vicente municipalities and nearby villages. Local fishing populations also consume the soft tissue of these bivalves. It is, therefore, fundamental to determine the concentrations of heavy metals in these mollusks to check for any health hazards. The levels of heavy metals in the *Perna perna* mussel and *Crassostrea*

rhizophorae oyster soft tissues determined in the present study are given in Table 1 and Figures 3 and 4.

The data were compared with other sites around the world (Table 1). Arsenic and cadmium are considered to serve no essential role in animal or plant physiology (Pinot et al., 2000; Satarug et al., 2006); rather, these metals can represent a significant environmental threat (Kim, 2014; Freitas et al., 2018). Chackraborty et al. (2012) indicated that bivalve exposure to sublethal inorganic arsenite can result in the development of profound haematopoietic and cardiac stress. In the case of Cd, it is present in low levels in some foods such as vegetables, meats like liver and kidney, and crustaceans and mollusks (Satarug et al., 2003). This metal access the human body mainly through the blood system (Tchounwou et al., 2012). Some authors have shown that this metal can harm the immune (Kim, 2014) and reproductive systems (Reichelt-Brushett and Harrison, 1999) of various organisms, potentially damaging the chromosomes (Inglot, et al., 2012). In the case of arsenic, diet, represents the largest path of exposure, having this metal a high carcinogenic potential (Tchounwou et al., 2003). In the present study, arsenic values varied between 1.98 and 8.61 mg/Kg in oyster samples and 2.37 and 8.96 mg/Kg in mussels. Results revealed a slight enrichment in ocean waters. Cd, on the other hand, presented low concentrations, being below the detection limits in all mussel samples and with values between 0.24 and 0.93 mg/Kg in oysters.

Copper and zinc are micronutrients, necessary for living organisms. However, when they are present at critical levels, these essential elements can result in negative impacts (Soliman et al., 2015). As protection mechanism against excessive exposure, some species present auto detoxification processes, like binding the toxic elements to high affinity sites in inorganic granules, or to various proteins like apoferritin or cysteine-rich metallothionein (Khatai et al., 2012). In the present study, Cu recorded relatively high concentrations in oyster tissues, varying between 67.8 and 257.3 mg/Kg. In mussels, this scenario was different, with lower levels, varying between 6.8 and 38.8 mg/Kg. A very different situation was shown by Zn. This metal was present at extremely high values, mainly in oysters. Concentrations varied between 1177.3 and 5074.1 mg/Kg, while for mussels they were from below detection to 390.6 mg/Kg. In a previous study, Pereira et al. (2002) recorded excessive levels of copper in *Crassostrea brasiliana* oysters in the same area. It is clear that the Cu levels recorded in the present research are critical (Table 1). If compared to the values established by international entities (Table 2), the Cu and Zn values obtained in the present study (mainly in oyster tissue) are above the suggested limits.

Yulianto et al (2019) suggest a provisional maximum consumption of 0.5 mg Cu/Kg body

weight per day (Table 3). They suggest that people weighing 65kg should not consume more than 32.5 mg Cu or

65.0 mg Zn in a day. Considering this limit, the levels of copper and zinc recorded in Santos Bay (Table 1) would mean that oysters collected in the area are not fit for consumption.

Brazilian legislation sets no limits on the levels of Fe in foods. However, when compared to the results available in the literature, the present study indicates significantly high values for this metal, especially in mussels. Concentrations varied between 94.3 and 531.6 mg/Kg in oysters and 145.2 and 5435.5 mg/Kg in mussels.

The presence of anomalous Cr values in the environment is generally linked to industrial activities, as occurring in the Santos area. In the present study, Cr presented higher levels in mussel samples, varying between 0.30 and 52.22 mg/Kg. In oysters the values were slightly lower, varying between 0.21 and 6.21 mg/Kg. Neither Ni nor Pb levels were significantly high in either bivalve.

According to the Brazilian Legislation (Table 1), with permissible limits of 5.8 mg/Kg for As, 5.8 mg/Kg for Cd, 11.6 mg/Kg for Pb, 174.0 mg/Kg for Cu, 0.58 mg/Kg for Cr, 29.0 mg/Kg for Ni and 290 mg/Kg for Zn, some of the present results would be deemed excessive (Ricciardi and Bourget, 1998). In oyster samples the limit was exceeded for As, Zn, Cu and Cr and with mussels for As and Zn. In both species, the most significant bioaccumulation was seen with Zn, which reached, in some oyster samples, more than ten times the legal limit (5074.0 mg/Kg) (Figures 3 and 4).

Mussels may ingest larger particles than mangrove oysters (organic detritus, silt and nanozooplankton, compared to merely phytoplankton for oysters) (Kehrig et al., 2006). Despite this, concentrations above the critical limits were more common in oysters, suggesting that bioaccumulation of contaminants is influenced by parameters other than mere filtering ratio.

Correlation analyses between metal concentrations and salinity values are depicted in Tables 4 and 5. Some studies have defined the influence of salinity on mobility (Chu et al., 2014), bioavailability and toxicity of trace metals (Du Laing et al., 2008). In general, the toxicity of trace metals is inversely related to salinity. Kumar et al. (2015) recorded higher levels of Cd, Cu, Fe and Mn in bivalve samples collected in lower salinity sites. The same authors found higher concentrations of dissolved metals in lower salinity sites such as river mouths, estuarine and sewage canals. This can be explained by the fact that at low salinities metals tend to stay in the colloid form, increasing particle buoyancy and the resulting bioavailability for specific

organisms, e.g. filter-feeders (Weltens et al. 2000). Pan and Wang (2002) highlighted the importance of the colloid fraction in heavy metal bioassimilation, demonstrating that the geochemical properties of colloids and the chemical properties of metals are critical in determining the bioavailability of colloid-bound metals to marine bivalves. According to these authors, metals bound to the larger colloids isolated from estuarine waters are more bioavailable than those bound to the smaller ones. With the increase of salt concentration, metals tend to associate with larger particles ($<0.7\mu\text{m}$) being progressively concentrated in sediments, which act as temporary reservoirs, isolated from bivalves that do not live in the lower part of the aquatic environment (Magalhães et al., 2015).

In a similar way, particularly when Ca^{2+} and Mg^{2+} ions are present in relatively high concentrations in the water column, trace metals will again be desorbed from suspended particles, as a result of competition between these divalent cations and the metal ions (Saglam et al. 2013). This sorption process is important for Zn and Cd in particular (Millward and Liu, 2003), as confirmed by the correlation shown between metals and salinity (Table 4) in oyster samples for Zn ($r = -0,6558$) and Cd ($r = -0,5995$). However, according to the statistical results, most of the metals showed an inverse, though weak, correlation with salinity (Table 3 and 4). In the case of Fe particularly, the Pearson test confirmed the significant inverse relationship between this metal and salinity in the case of mussels. Higher concentrations were recorded at the innermost points of the estuary ($r = -0,5072$; Figure 4), suggesting the same pattern followed by Zn and Cd.

Arsenic was an exception. This metal showed a moderate to strong correlation in both mussels ($r = 0.4767$) and oysters ($r = 0.7113$). This inverse pattern can easily be explained, since As exists as an anion and is not in competition for uptake sites (McLusky et al., 1986).

CONCLUSION

In addition to being important as a food source and in the ecological balance of marine ecosystems, bivalves are intensively used in the assessment of the availability of heavy metals in the environment around the world. In the present study the values of almost all the various metal concentrations found in the mollusks can be considered high. Many of the levels were above the legal limits recommended in Brazil. An increase in salinity proved to be relevant exclusively in the assimilation dynamics of As, both for mussels and oysters, despite the high natural variability of the physicochemical parameters of the water column in estuarine

environments.

The results showed that both the *Perna perna* mussel and the *Crassostrea rhizophorae* oyster are useful for the environmental monitoring of pollutants. The results also suggest that the bivalves produced in Santos Bay are improper for consumption, especially the oysters, which contained extremely high zinc concentrations.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by SNP (Secretaria Nacional de Portos). The authors are also grateful to the Geology Department/LAGEMAR at UFF (Universidade Federal Fluminense) for the infrastructure and administrative support.

REFERENCES

Abdelghany, S.R. (2017). Heavy metal bioaccumulation in the edible bivalve *Venerupis decussata* collected from Port Said, Egypt. *Wulfenia Journal*, 24, 48-62.

Abessa, D., Carr, R., Bauer, R., Eduinetty, S. & Sarkis, J. H. M. (2005). Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 875- 885.

Aguiar, V.M.C. & Braga, E.S. (2007). Seasonal and tidal variability of phosphorus along a salinity gradient in the heavily polluted estuarine system of Santos/São Vicente – São Paulo, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 54, 464–488

APHA (1992). APHA method 3120: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition, American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environmental Federation, Washington DC.

Campolim, M.B., Henriques, M.B., Petesse, M.L., Rezende, K.F.O. & Barbieri, E. (2017). Metal trace elements in mussels in Urubuqueçaba Island, Santos Bay, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52, 1131-1139.

Catharino, M.G.M., Vasconcellos, M.B.A., Ousa, S.E.C.P.M., Moreira, E.G. & Pereira, C.D.S. (2008). Biomonitoring of Hg, Cd, Pb and other elements in coastal regions of São Paulo State, Brazil, using the transplanted mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 278, 547-551.

Chakraborty, S., Ray, M. & Ray, S. (2012). Arsenic toxicity: A heart-breaking saga of a freshwater mollusc. *Tissue and Cell*, 44(3) 151-155. 9

Chandurvelan, R., Marsden, I., Gaw, S. & Glover, C. (2013). Waterborne cadmium impacts immunocytotoxic and cytogenotoxic end points in green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Aquatic Toxicology*, 143, 283-293.

Chandurvelan, R., Marsden, I.D., Gaw, S. & Glover, C.N. (2012). Impairment of green-lipped mussel (*Perna canaliculus*) physiology by waterborne cadmium: relationship to tissue bioaccumulation and effect of exposure duration. *Aquatic Toxicology*, 125, 114-124.

Chapman, P.M., Wang, F.Y., Janssen, C., Persoone, G. & Allen, H.E. (1998). Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55, 2221–2243.

Chu, B., Chen, J. X., Q. Li, Yang, Y. F., Mei, X. Q., He, B. Y., Li H. & Tan, L. (2014). Effects of salinity on the transformation of heavy metals in tropical estuary wetland soil. *Chemistry and Ecology*, 186-198.

Cloern J. E., Jassby A. D., Schraga T. S., Nejad E. & Martin C. (2017). Ecosystem variability along the estuarine salinity gradient: Examples from long-term study of San Francisco Bay. *Limnology and Oceanography*, 62, 272-291.

Dancey, C., Reidy, J. (2006). *Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para 285 Windows*. Porto Alegre, Artmed

De Souza, M.M., Windmolle, C.C. & Hatje, V. (2011). Shellfish from Todos os Santos Bay, Bahia, 287 Brazil: Treat or threat? *Marine Pollution Bulletin*, 62(10) 2254-2263.

Department of Health and Human Services (2020). *Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance*, 3rd Ed.

Diop, M., Howsam, M, Diop, C., Goossens, J.F., Diouf, A. & Amara, R. (2016). Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugilcephalus*, *Sarotherondon melanotheron*) along the Senegalese coast. *Marine Pollution Bulletin*, 103, 339-343.

Du Laing, G., Vos, R., Vandecasteele, B., Lesage, E., Tack, F. & Verloo, M. (2008). Effect of Salinity on Heavy Metal Mobility and Availability in Intertidal Sediments of the Scheldt Estuary. *296 Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 77, 589-602.

El Nemr, A., El-Said, G.F., Khaled, A. & Ragab, S. (2016). Distribution and ecological risk assessment of some heavy metals in coastal surface sediments along the Red Sea, Egypt.

International Journal of Sediment Research, 2, 164-172.

El Nemr, A., Khaled, A. & El Sikaily, A. 2012. Metal pollution in surface sediments along Egyptian mediterranean coast. *Blue Biotechnology Journal*, 1 (1), 113-140. 10

El Nemr, A., Khaled, A., Moneer, A. A. & El Sikaily, A. (2012). Risk probability due to heavy metals in bivalve from Egyptian Mediterranean coast. *Egypt Journal of Aquatic Research*, 38 (2), 304 67-75.

EL-Shenawy, N.S.; Loutfy, N.; Soliman, M.F.M., Tadros. M.M. & El-Azeez, A.A.A. (2016). Metals bioaccumulation in two edible bivalves and health risk assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188, 139.

European Commission Regulation (EC No 1881/2006)

FAO: Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed. Codex Standard 193 –1995

Freitas, R., Coppola, F., De Marchi, L., Codella, V., Pretti, C., Chiellini, F., Morelli, A., Polese, G., Soares, A.M.V.M. & Figueira, E. (2018). The influence of Arsenic on the toxicity of carbon nanoparticles in bivalves. *Journal of Hazardous Materials*, 358, 484-493.

Fung, C.N., Lam, J.C.W., Zheng, G.J., Connell, D.W., Monirith, I. S. Tanabe, B. J., Richardson, P. K. & Lam. S. (2004). Mussel-based monitoring of trace metal and organic contaminants along the east coast of China using *Perna viridis* and *Mytilus edulis*. *Environmental Pollution*, 127(2) 203-216.

Gleyci, A., Moser, O., Giancesella S.M.F., Alba J.J.B., Bérghamo A.L., Saldanha-Corrêa, F.M.P., Miranda & L. B. de, Harari, J. (2005). Instantaneous transport of salt, nutrients, suspended matter 320 and chlorophyll-a in the tropical estuarine system of Santos. *Brazilian Journal of Oceanography*, 53(3-4),115-127.

Griscom, S. B. & Fisher N. S. (2004). Bioavailability of sediment-bound metals to marine bivalve molluscs: An overview. *Estuaries*, 27, 826–838.

Hortellani, M. A., Sarkis, J. E. S., Abessa, D. M. S. & Sousa, E. C. P. M. (2008). Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do estuário Santos – São Vicente, *Química 326Nova*, 31(1), 10-19.

Inglot, P., Lewinska, A., Potocki, L., Oklejewicz, B., Tabecka-Lonczynska, A., Kozirowski,

M., Bugno-Poniewierska, M., Bartosz, G. & Wnuk, M. (2012). Cadmium-induced changes in genomic DNA-methylation status increase aneuploidy events in a pig Robertsonian translocation model. *Mutation Research*, 747, 182–189.

Khati, W., Oualia, K., Mouneyrac, C. & Banaoui, Ali. (2012). Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring. *Energy Procedia*, 333 18,784 – 794.

Kehrig, H. A, Costa, M., Moreira, I., Malm, O. 2006. Total and methyl mercury in different species of molluscs from two estuaries in Rio de Janeiro State. *Journal of Brazilian Chemical Society* 17, 1409- 1418

Kim, E., Jee, J., Steiner, H., Cornet-Boyaka, E. & Boyaka, P. (2014). Chronic exposure to cadmium alters gut immune homeostasis and innate immunity (MUC8P. 810). *The Journal of Immunology*, 192,198.11-198.11

Kim, R.Y., Yoon, J.K., Kim, T.S., Yang, J.E., Owens, G. & Kim, K.R. (2015). Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation – a critical review. *Environmental Geochemistry and Health*, 37, 1041-1061.

Kumar, V., Sinha, A. K., Rodrigues, P. P., Mubiana, V. K, Blust, R. & De Boeck, G. (2015). Linking environmental heavy metal concentrations and salinity gradients with metal accumulation and their effects: A case study in 3 mussel species of Vitória estuary and Espírito Santo bay, Southeast Brazil. *Science of Total Environment*, 1(523) 1-15.

Lamparelli, M.C., Costa, M.P., Prósperi, V.A., Bevilacqua, J.E., Araújo, R.P., Eysinc, G.G.J. & Pompéia, S. (2001). Sistema Estuarino de Santos e São Vicente - “Levantamento da contaminação ambiental do sistema estuarino de Santos e São Vicente.” PROCOP - Programa de Controle de Poluição, São Paulo, Brazil. 178p.;

Lino, A.S., Galvão, P.M.A., Longo, R.T., Azevedo-Silva, C.E. & Dorneles, P.R. (2016). Metal bioaccumulation in consumed marine bivalves in southeast Brazilian coast. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 34, 50-55.

Magalhães, D. de P., Marques, M. R. da C., Baptista D. F. & Buss D. F. (2015). Metal bioavailability and toxicity in freshwaters. *Environmental Chemistry Letters*, 13, 9–87.

McLusky, D.S., V. Bryant & Campbell. R., (1986). The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates. *Oceanography and Marine Biology, An Annual Review* 24: 481-52.

Millward, G.E. & Liu, Y.P. 2003. Modelling metal desorption kinetics in estuaries. *Science of the Total Environment*, 314-316, 613-623.

Mubiana, V.K., Vercauteren, K. & Blust, R. (2006). The influence of body size, condition index and tidal exposure on the variability in metal bioaccumulation in *Mytilus edulis*. *Environmental Pollution* 144, 272-279.

Munné, A., Tirapu, L., Sola, C., Olivella, L., Vilanova, M., Ginebreda, A., Prat, N. 2012. Comparing chemical and ecological status in catalan rivers: analysis of river quality status following the water framework directive. Emerging and priority pollutants in rivers. Springer, Berlin, 243–265.

Muto, E.Y., Corbisier T. N., Coelho L. I., Arantes, L. P. L., Chalom, A. & Soares, L. S. H. (2014). Trophic Groups of Demersal Fish of Santos Bay and Adjacent Continental Shelf, São Paulo State, Brazil: Temporal and Spatial Comparisons. *Brazilian Journal of Oceanography*, 62(2), 89-102.

Nice, H.E. & Fisher, S.J. (2011). Ecotoxicological and Bioaccumulation Investigations of the 365 Swan Estuary in the Vicinity of Claisebrook. *Water Science and Technology*, n28, ISSN 1836- 366 2869. 12

Orescanin, V., Lovrencic, I., Mikelic, L., Barisic, D., Matasin, Z., Lulic, S. & Pezelj, D. (2006). Biomonitoring of heavy metals and arsenic on the east coast of the middle Adriatic Sea using *Mytilus galloprovincialis*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, 245, 495-500.

Pan, J. & Wang, W. (2002). Comparison of the bioavailability of Cr and Fe bound with natural colloids of different origins and sizes to two marine bivalves. *Marine Biology*, 141, 915–924.

Perina, F.C., Torres, R.J., Mozeto, A.A., Nascimento, M.R.L. & Abessa, D.M.S. (2018). Sediment quality assessment of the tributaries of the Santos-São Vicente Estuarine System – Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 13(2), 25-38.

Perošević, A., Pezo L., Joksimović D., Đurović D., Milašević, I., Radomirović, M. & Stanković, S. (2018). The impacts of seawater physicochemical parameters and sediment metal contents on trace metal concentrations in mussels—a chemometric approach. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 28248–28263.

Pinot, F., Kreps, S.E., Bachelet, M., Hainaut, P., Bakonyi, M. & Polla, B.S. (2000). Cadmium in the environment: sources, mechanisms of biotoxicity, and biomarkers. *Reviews on*

Environmental Health, 15, 299–323.

Pytharopoulou, S., Kournoutou, G.G., Leotsinidis, M., Georgiou, C.D. & Kalpaxis, D.L. (2013). Cadmium versus copper toxicity: Insights from an integrated dissection of protein synthesis pathway in the digestive glands of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 263- 271.

Reichelt-Brushett, A. & Harrison, P. (1999). The effect of copper, zinc and cadmium on fertilization success of gametes from scleractinian reef corals. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 182–187.

Ricciardi, A. & Bourget, E., 1998. Weight-to-weight conversion factors for marine benthic macro invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 163, 245-251.

Rojas de Astudillo, L., Chang Yen, I. & Bekele, I. (2005). Heavy metals in sediments, mussels and oysters from Trinidad and Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 53, 41-51.

Saavedra, Y., Gonzalez, A., Fernandez, P. & Blanco, J. (2004). The effect of size on trace metal concentrations in raft cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Science of the Total Environment*, 318, 115-124.

Satarug, S., Baker, J.R., Urbenjapol, S., Haswell-Elkins, M., Reilly, P.E., Williams, D.J. (2003) A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. *Toxicology Letters*, 137, 65–83.

Schöne, B.R. & Krause, J.R. (2016). Retrospective environmental biomonitoring – Mussel Watch expanded. *Global and Planetary Change*, 144, 228-251.

Scully, M. E. & Geyer, W. R. (2012). The Role of Advection, Straining, and Mixing on the Tidal Variability of Estuarine Stratification. *Journal of Physical Oceanography*, 42, 855–868.

Shulkin, V.M., Presley, V.I. & Kavun, V.L.A. (2003). Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments. *Environment International*, 29, 493-502.

Soliman, M.F.M., El-Shenawy, N. S., Tadros, M.M. & Abd El-Azeez A. A. (2015). Impaired behavior and changes in some biochemical markers of bivalve (*Ruditapes decussatus*) due to zinc toxicity. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 97(5) 674 – 686.

Superville, P.J., Prygiel, E., Magnier, A., Lesven, L., Gao, Y., Baeyens, W., Ouddane, B., Dumoulin,

D. & Billon, G. (2014). Daily variations of Zn and Pb concentrations in the Deûle River in relation to the resuspension of heavily polluted sediments. *Science of the Total Environment*, 471, 600-607.

Tchounwou, P.B., Patlolla, A.K., Centeno, J.A. (2003). Carcinogenic and systemic health effects associated with arsenic exposure-a critical review. *Toxicologic Pathology* 31(6):575–588.

Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K., Sutton, D.J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Supply* 101,133-164.

Telesh, I. & Khlebovich, V. (2010). Principal processes within the estuarine salinity gradient: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 61, 149-55.

Tornero V. & Hanke, G. (2016). Chemical contaminants entering the marine environment from sea- based sources: A review with a focus on European seas. *Marine Pollution Bulletin*, 112, 17-38.

Torres, R.J., Abessa, D.M.S., Santos, F.C., Maranhão, L.A., Davanso, M.B., Nascimento, M.R.L. & Mozeto, A.A., (2009). Effects of dredging operations on sediment quality: contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil. *Journal of Soils and Sediments*, 9, 420–432.

Tureck, C., Oliveira, T.M.N., Crêmer, M.J. & Bassfeld, J.C. (2006). Avaliação da concentração de metais pesados em tecido de ostras *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia) cultivadas na Baía da Babilonga, litoral Norte de Santa Catarina. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 16, 53 420 – 62.

Wang, W.X. & Lu, G., (2017). Heavy Metals in Bivalve Mollusks. *Chemical Contaminants and Residues in Food*, 2, 553-594.

Weltens, R., Goossens, R. & Van Puymbroeck, S. (2000). Ecotoxicity of contaminated suspended solids for filter feeders (*Daphnia magna*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39, 315–323.

WHO (1993). Guidelines for drinking-water quality recommendations. 2nd ed. Geneve.

WHO 1982. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives. (Geneva: World Health Organization ISBN: 978-92-4-120940-3, p. 106.

Yuan, Y.; Sun, T., Wang, H., Liu, Y, Pan, Y., Xie, Y., Huang, H. & Fan, Z. (2019). Bioaccumulation and health risk assessment of heavy metals to bivalve species in Daya Bay

(South China Sea): Consumption advisory. *Marine Pollution Bulletin*, 150, 14.

Yuan, M., Jiang, C., Zhang X.W.M., 2020. Influence of Salinity Gradient Changes on Phytoplankton Growth Caused by Sluice Construction in Yongjiang River Estuary Area. *Water*. 12, 2492.

Yulianto, B., Oetari, P., Februhardi, S., Trisnadi, P. & Agoes, S. (2019). Heavy metals (Cd, Pb, Cu, Zn) concentrations in edible bivalves harvested from Northern Coast of Central Java, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.

Table 1. Concentrations of heavy metals (mg.kg-1 dry weight) determined in the soft tissue of bivalve mollusks, collected from different coastal areas of the world.

Reference	Specie	Location	Cd	Zn	Pb	Cu	Ni	Cr	Fe	As
Brazilian legislation	-	-	5.8	290	11.6	174	29	0.58	-	5.8
Present study (average)	<i>Crassostrea rhizophorae</i>	Santos Bay	0.47	2569.1	1.4	142.68	0.85	0.77	191.3	4.8
Present study (average)	<i>Perna perna</i>	Santos Bay	n.d.	88.3	0.5	20.23	8.0	5.0	1387.6	4.4
Shulkin et al. (2003)	<i>Crassostrea gigas</i>	Russia	17.6	5284	26.5	3946	-	-	-	-
Shulkin et al. (2003)	<i>Crenomytilus grayanus</i>	Russia	26	616	283	108	-	-	-	-
Fung et al. (2004)	<i>Perna viridis and Mytilus edulis</i>	China	1.23 – 4.96	76.89 – 141.3	0.51 – 0.90	1.83 – 22.58	1.50 – 3.31	2.18 – 10.93	120.6 – 681.5	12.93 – 24.55
Rojas de Astudillo (2005)	<i>Crassostrea rhizophorae</i>	Venezuela	0.43 ± 0.02	488 ± 22	-	14.6 ± 0.5	0.17 ± 0,01	0.23 ± 0.02	-	-
Rojas de Astudillo (2005)	<i>Perna viridis</i>	Venezuela	0.21 ± 0.03	18.8 ± 0.7	-	1,8 ± 0,1	0,41 ± 0,02	0,22 ± 0,01	-	-
Orescanin et al. (2006)	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Europe	-	105 – 127.9	3.9 – 4.2	5.3 – 6.9	1.9 – 2.4	1,8 – 1.9	85.8 – 261.3	13.3 – 15.6
Tureck et al. (2006)	<i>Crassostrea gigas</i>	Santa Catarina, Brazil	<1 – 3.08	53.1 – 184.6	-	1.27 – 53.62	<1 – 7.59	-	-	0.17 – 2.58
Catharino et al. (2008)	<i>Perna perna</i>	Ilhabela/SP, Brazil	0.11	15.4	-	-	-	0.09	22	1.88
De Souza et al. (2011)	<i>Crassostrea rhizophorae</i>	Bahia, Brazil	-	1273 ± 13.5	6.43 ± 0.0	28.4 ± 0.30	-	0.15 ± 0.00	346 ± 8.97	5.55 ± 0.37
Nice and Fisher (2011)	<i>Mytilus edulis planulatus</i>	Australia	0.21 – 0.27	6 – 9.6	0.08 – 0.52	1.7 – 2.2	0.25 - 85	0.05 – 0.17	-	0.46 – 0.75
Kumar et al. (2015)	<i>P. perna and Mytela sp.</i>	Vitória, Brazil.	0,5 - 10	80 - 120	-	5 - 40	-	-	100 - 2000	-
Lino et al. (2016)	<i>Perna perna</i>	Rio de Janeiro, Brazil	<0.03 – 0.7	33 - 65	<0.6	3 - 3200	<1.4 – 4.0	1.0 – 7.5	104 - 477	-
Campolimet al. (2017)	<i>Perna perna</i>	Santos Bay, Brazil	0.24 - 0.87	59 - 170	0.3 - 2.6	4 - 8	4.5 - 11.5	0.5 - 2.5	430 - 770	-

Table 2. Maximum Acceptable Limits of Cd, Pb, Cu and Zn (mg/Kg⁻¹) in marine animals released by some authorities.

<i>Organization</i>	<i>Cu</i>	<i>Zn</i>
FAO ^a	-	-
WHO ^b	10	100
European Union ^c	-	-
FDA USA ^d	100	150

^aFAO: *Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed. Codex Standard 193 – 1995*

^bWHO 1982. *Toxicological Evaluation of Certain Food Additives*. (Geneva: World Health Organization ISBN: 978-92-4-120940-3, p. 106. ^cEuropean Commission Regulation (EC No 1881/2006) concerning setting maximum levels for certain contaminants in foods (mg/Kg wet weight)

^d*Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance, 2020. 3rd Ed. (USA: Department of Health and Human Services).*

Accepted Article

Table 3. Provisional Tolerable Intake of Cd, Pb, Cu and Zn (mg/Kg, Body Weight) (Modified from Yulianto et al., 2019)

<i>Organization</i>	<i>Cu</i>	<i>Zn</i>
FAO/WHO ^b	0.5 (PTMDI)	
FAO/WHO ^b		0.3 – 1 (PTMDI)

Notes: PTWI: Provisional Tolerable Weekly Intake; PMWI: Provisional Tolerable Monthly Intake; PTMDI = Provisional Tolerable Maximum Daily Intake

^a *FAO/WHO 2011 Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. WHO Technical Report Series 960 – JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee and Food Additives). Seventy third report p 237.*

^b *FAO/WHO 1982 Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. WHO Technical Report Series 683 – JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee and Food Additives). Seventy third report p 237.*

Accepted Article

Table 4. Correlation between salinity and concentrations of heavy metals in mussels

	<i>Salinity</i>	<i>As</i>	<i>Cd</i>	<i>Pb</i>	<i>Cu</i>	<i>Cr</i>	<i>Fe</i>	<i>Ni</i>	<i>Zn</i>
Salinity	1								
As	0,4767	1							
Cd	-	-	1						
Pb	-0,3378	0,0227	-	1					
Cu	-0,5939	-0,3539	-	0,5680	1				
Cr	-0,3628	0,0041	-	0,9981	0,5927	1			
Fe	-0,5072	-0,2374	-	0,8193	0,7751	0,8478	1		
Ni	0,0551	0,1961	-	0,2405	0,0865	0,2300	0,1054	1	
Zn	0,1304	0,2083	-	0,1955	-0,2277	0,1797	0,0052	0,8124	1

Table 5. Correlation between salinity and concentrations of heavy metals in oysters

	<i>Salinity</i>	<i>As</i>	<i>Cd</i>	<i>Pb</i>	<i>Cu</i>	<i>Cr</i>	<i>Fe</i>	<i>Ni</i>	<i>Zn</i>
Salinity	1								
As	0,7113	1							
Cd	-0,5995	-0,0086	1						
Pb	-0,0487	-0,0755	-0,0895	1					
Cu	0,5659	0,6585	-0,0462	-0,0303	1				
Cr	0,0664	-0,2368	-0,3386	-0,1405	-0,3427	1			
Fe	-0,0728	-0,1711	-0,1666	-0,0261	-0,2686	0,0236	1		
Ni	-0,1319	-0,2195	-0,0727	0,7396	-0,0661	-0,0546	0,1439	1	
Zn	-0,6558	-0,1832	0,9188	-0,1218	-0,0155	-0,4056	-0,0394	0,0158	1

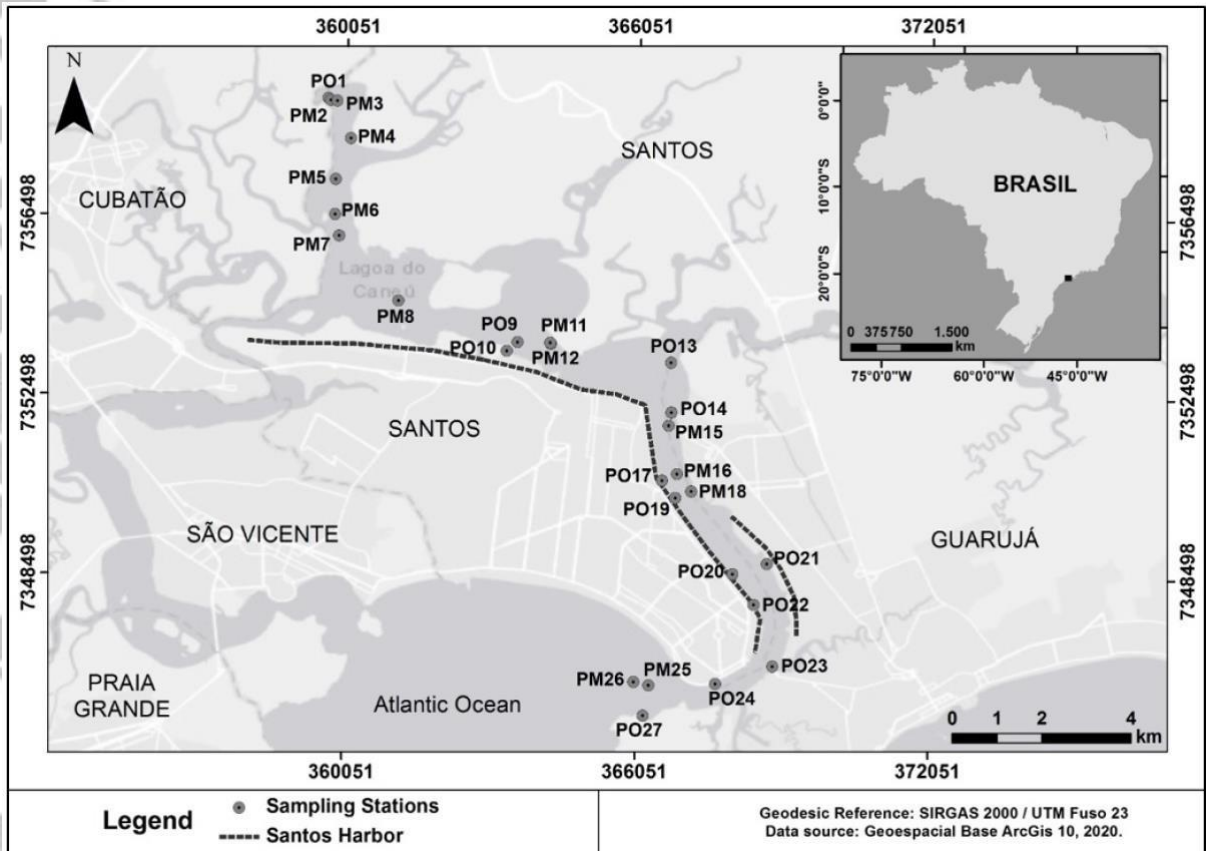


Figure 1. Santos estuarine complex and sampling stations (PM: Mussel sampling stations / PO: Oyster sampling stations)

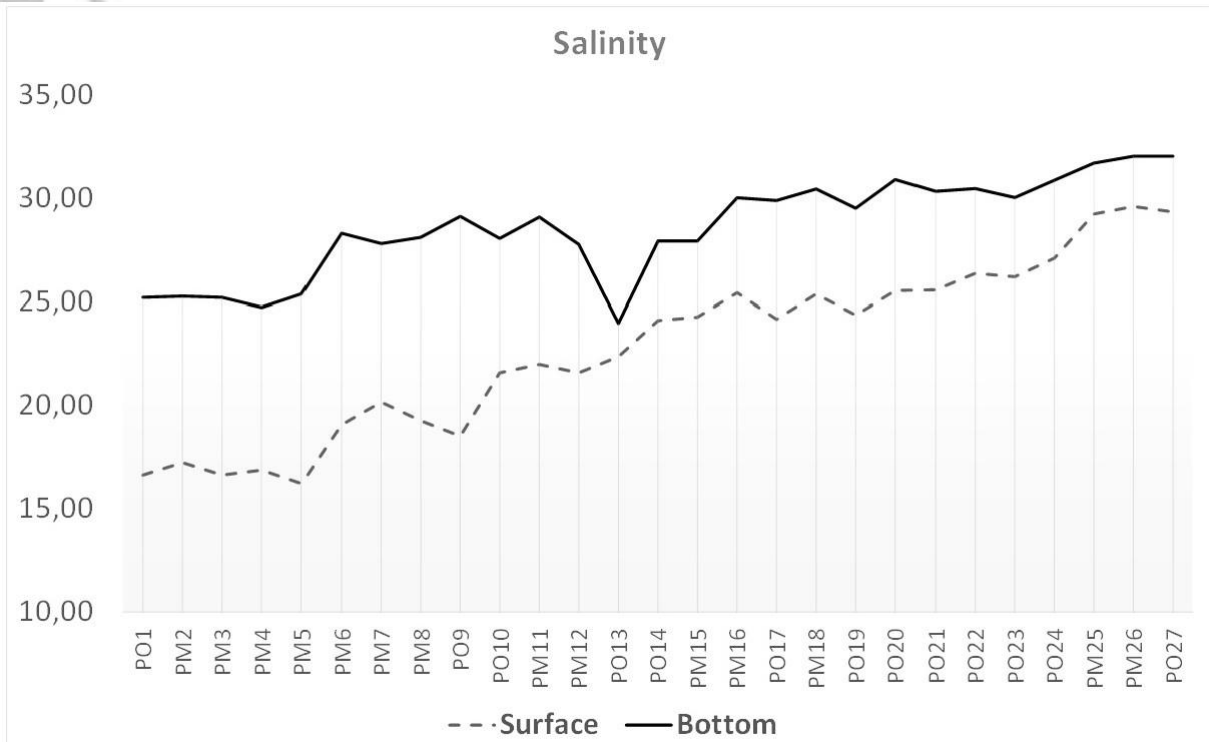


Figure 2. Salinity variation along Santos Estuarine System

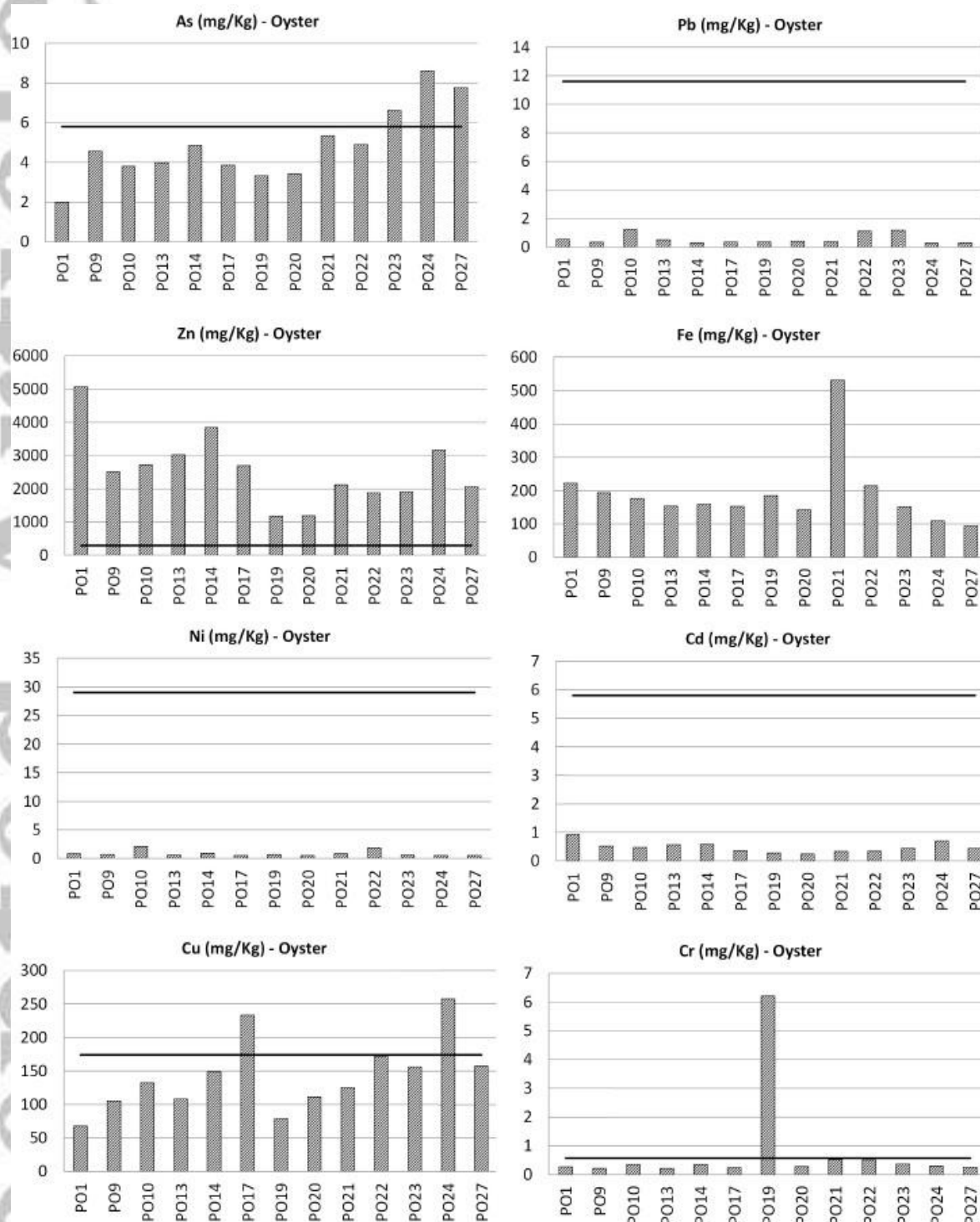


Figure 3. Heavy metal concentrations in oysters (dry weight). (Brazilian legal limit represented by the continuous line)

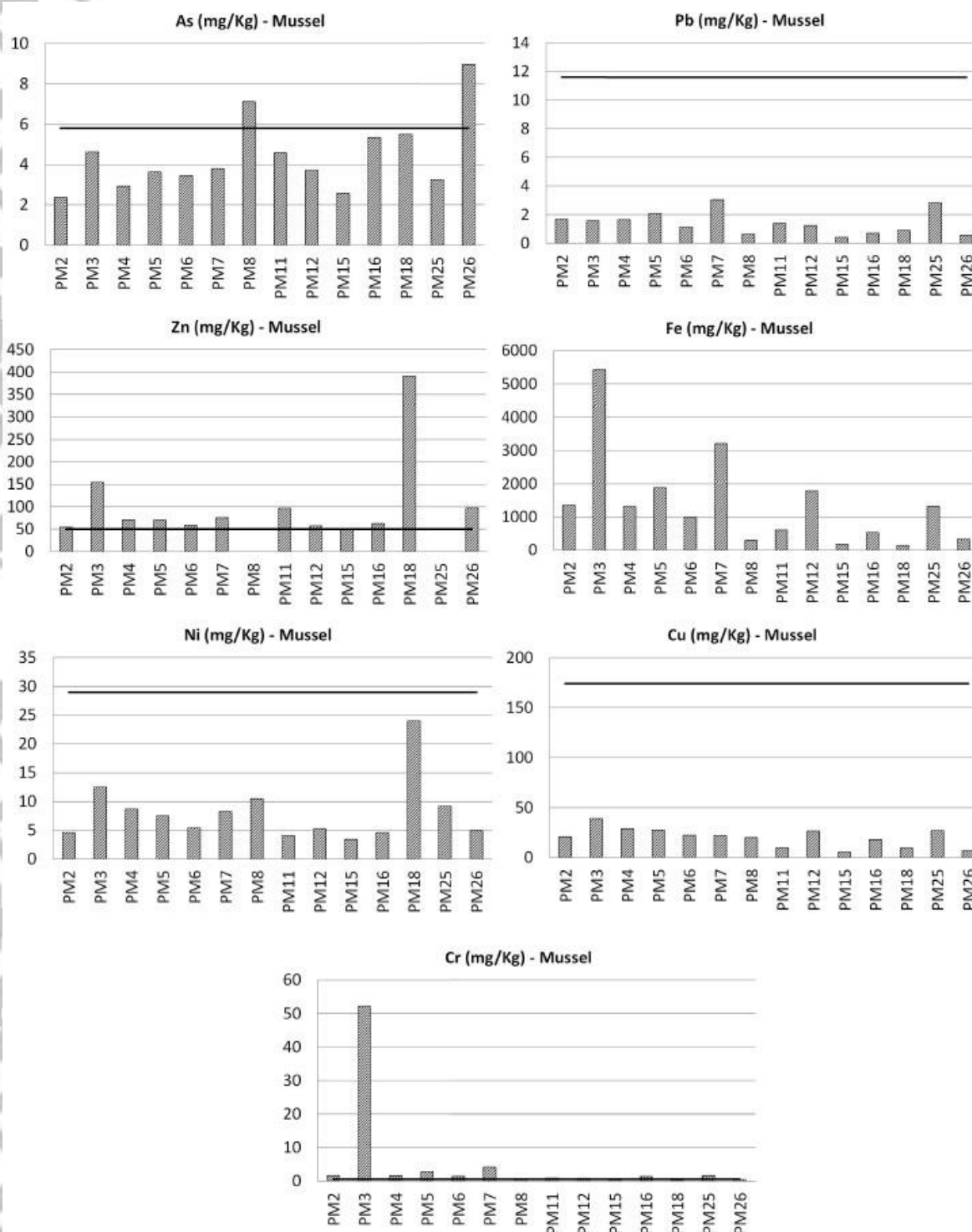


Figure 4. Heavy metal concentrations in Mussels (dry weight). (Brazilian legal limit represented by the continuous line)

Graphical Abstract

Comparing the concentrations of heavy metals on two bivalve species in Santos Bay/Brazil: subsidies to understanding the assimilation dynamic of bivalve contaminants

Patricia Farias de Souza;

Khaue Silva Vieira;

Leonardo da Silva Lima;

Adriana Azevedo Netto;

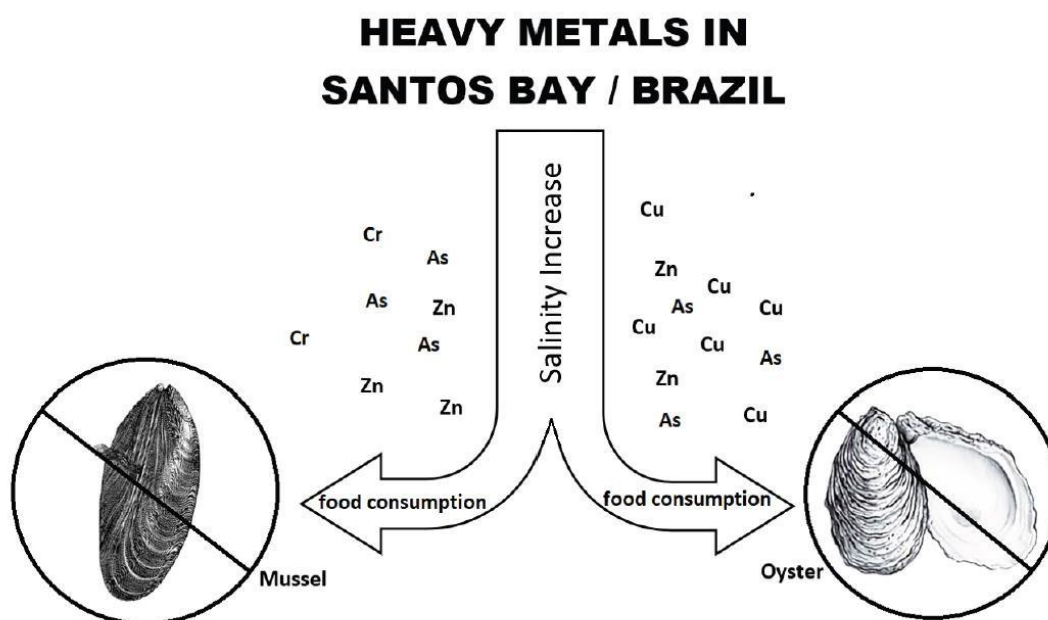
Jessica de Freitas Delgado;

Thulio Righeti Corrêa;

José Antônio Baptista Neto¹;

Christine C. Gaylarde²;

Estefan Monteiro da Fonseca^{*}



PRACTITIONER POINTS

The present study:

- presents important results for the development of environmental management policies in estuarine environments;
- points out differences between different organisms as biomonitors, providing subsidies for the decision of an effective biomonitoring program; and
- discusses values of contaminants as a danger to public health in Santos Bay, which can be extrapolated to other similar environments around the world.

ANEXO B – ARTIGO 2

Heavy metal and hydrocarbons bioaccumulation by mussel *Perna perna* and oyster *Crassostrea rhizophorae* from Santos Bay, Brazil: subsidies for understanding bivalves contaminant bioconcentration dynamic

De Souza, P. F.¹; Vieira, K.S.¹; Lima, L. S.¹; Azevedo Netto, A.¹; Delgado, J.F.¹; Corrêa, T. R.¹; Baptista Neto, J. A.¹; Fonseca, E.M.*¹

¹ Graduate Program in Dynamics of Oceans and Earth, Fluminense Federal University, Niterói/RJ, Code 24230-971, Brazil.

*Corresponding Author: oceano25@hotmail.com

ABSTRACT

Heavy Metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's) are primarily sourced from industrial and urban areas. As pollutants, these chemical compounds can be toxic and has the potential to negatively impact the ecosystem, especially the most sensitive ones such as estuaries. Bivalves species have been successfully utilized as monitoring tools to evaluate pollutants bioaccessibility around the globe. The present study assessed heavy metals (Zn, Cd, Ni, Fe, Cr, Cu, Pb, and As) and PAH's levels in two mollusk species (*Perna perna* and *Crassostrea rhizophorae*) from Santos Estuarine System, in São Paulo State, in order to compare the effectiveness of each species in the biomonitoring process. According to the obtained data, *Perna perna* mussels may be better indicators of environmental pollution than *Crassostrea rhizophorae* oysters for some metals (Iron and Nickel) and hydrocarbons. On the other hand, in the present study, oysters had a higher capacity for retaining zinc, copper and cadmium, due to their peculiar physiological characteristics.

Keywords: *biomonitoring, toxicology, water quality.*

INTRODUCTION

Along the human evolution history, pollution of the aquatic ecosystems has turned into a critical issue around the globe. The contamination of coastal areas resulting from the continuous population growth, added to the uncontrolled expansion of industrialization and agricultural activity, has become a global challenge (Hossain et al., 2018; Barletta et al., 2019). On the other hand, as a result of the fine grain accumulations caused from the low current energy and the high levels of load pollutants, geomorphologic protected aquatic environments have become extremely vulnerable to the harmful chemical compounds impacts (Senez-Mello et al., 2020). In this context, estuaries are among the most important marine ecosystems in the world, both in terms of biological production and for the development of human activities (Khan et al., 2014).

Availability of pollutants in aquatic environments can result in negative impacts to marine ecosystem, which above critic levels can influence harmfully biota populations (Singh et al. 2011) and result in dietary restrictions on seafood production (Hosseini et al. 2013). Aquatic species are dependent on their surrounding ecosystem for a range of physiological processes (feeding, gas exchange, excretion, reproduction and migration) what makes them sensible for environmental pollution (Trevisan et al., 2016). Still, this sensibility turns them effective monitors of toxic compounds bioavailability's in aquatic environment (Apeti et al., 2010).

Bivalves organisms show the capacity to concentrate potential toxic compounds to levels that are relatively easy to measure since they absorb these chemicals continuously (Farrington et al., 2016). Other particular characteristics of mollusks bivalves include their sessile nature, sufficiently long-lived and be of a reasonable size to provide enough tissue for analysis (O'Conner, 1992). Considered as biological tools, these organisms allow the understanding of pollution dynamic and its negative influence to human population, once it has the ability to indicate directly the real measure of environmental contamination, and how it can affect the local ecosystem (Cao and Wang, 2016; Jing and Wang, 2015). As a result of their wide geographic distribution, tolerance and adaptability, marine bivalves have been used as essential organisms in many countries for marine pollution controlling (Otchere, 2019).

The north shore of the São Paulo State, Brazil, presents great bivalve diversity, but knowledge about these organisms, particularly species living subtidal, remains scarce (Tallarico et al., 2014). The present study comparatively evaluated the total heavy metals and polyaromatic hydrocarbons in the soft tissues of two species of marine bivalves, *Perna perna* (common

mussel) and *Crassostrea rhizophorae* (mangrove oyster) from Santos Bay. The objective of the present study was to evaluate the bioaccumulation capacity of each organism in relation to the available pollutants, in order to increase the understanding of the dynamics of absorption of contaminants in different bivalves' species.

STUDY SITE

Santos Bay is located in Brazil on the central coast of southeastern São Paulo State (24000 S; 46210 W). It comprises the estuarine system of Santos and São Vicente municipalities (Figure 1). This area corresponds to one of the most industrialized coastal regions of Latin America (Moreira and Bessa, 2014). It is impacted by anthropogenic pressures from different sources, including the submarine outfall, source of domestic effluents from the cities of Santos and São Vicente, and diffuse sources such as irregular urban occupation in estuarine sites and urban runoff.

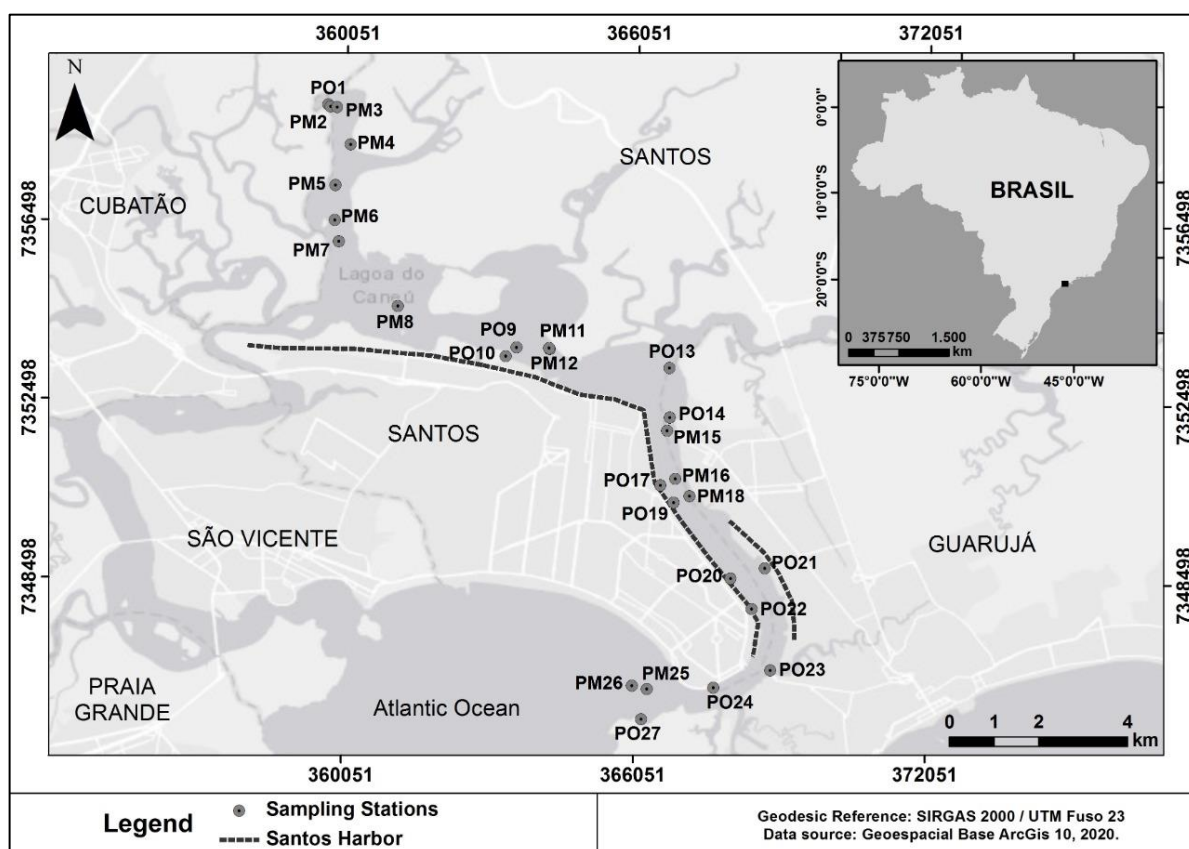


Figure 1. Study area and sampling stations (PM - Mussel samples / PO - Oyster samples)

Santos has the largest commercial harbor of South America and is one of the most important petrochemical and metallurgical industrial areas in Brazil (the Cubatão industrial complex),

which has around 1.100 industries (Buruaem et al., 2013). In this context, the estuary and Santos Bay is continually exposed to contamination, due mainly to the intense industrial activity or to old discharges and the retention of inorganic (Azevedo et al., 2011) and organic (Bícego et al. 2006) compounds in the sediment. All these anthropogenic sources contribute directly or indirectly to the input of contaminants to this area.

MATERIALS AND METHODS

27 sampling stations were precisely located where oyster or mussels were sampled, from available consolidated substrates. Mussels' and oysters' specimens had their soft tissue extracted separately, up to the sum of 200g per monitoring station. These samples were oven-dried at 60°C and macerated. Heavy Metals (Zn, Cd, Ni, Fe, Cr, Cu, Pb and As) were analyzed through USEPA 3051 and SMEWW 3120B (APHA 1992) methods. The quantitative recoveries of heavy metals in the bivalves ranged from 95.3 % to 104.5. The detection limits of Zn, Cd, Ni, Fe, Cr, Cu, Pb and As using the ICP-MS were 0.0040, 0.0012, 0.03, 0.0067, 0.050, 0.50, 0.0045 and 0.0461 ug/Kg, respectively.

PAHs were analyzed through the Nakata et al., (2003) method, with some adaptations. Nearly 3–5 g of bivalve's tissue was homogenized with anhydrous sodium sulfate and then extracted for five hours with a dichloromethane: hexane (8:1) mixture in a Soxhlet apparatus. The extract was concentrated to 10 mL, and an aliquot of the extract was analyzed for extractable lipid. Deuterated PAH surrogate standards (acenaphthene-d10, phenanthrene-d10, chrysene-d12, and perylene-d14) were then added to the sample extract before it was fractionated using gel permeation chromatography (with 1:1 dichloromethane: hexane as the mobile phase) and silica gel column chromatography. The eluate was concentrated to 20–30 µL. PAHs were determined by gas chromatography (Agilent 6980, Agilent Technologies, USA) coupled with mass spectrometry (Agilent 5973) in SIM mode. The GC column used was a BPX-5 fused silica capillary column (30 m 0.25 mm id., S&G Scientific Inc., Australia). A procedural blank was analyzed with every set of five samples. The detection limit was defined as three times the value of the blanks.

The results obtained were analyzed by means of ANOVA, and statistical package Past 3.20 was used. The significance level was chosen as $p < 0,05$. To confirm the differences between the means, the Tukey test was used. In order to evaluate the potential relationship between metals and PAHs and their assimilation by oysters and mussels, the Pearson correlation (r) between the values of metals and MPs concentrations was calculated. Values above 0.7 were considered

strong and significant, in agreement with Dancey and Reidy (2006), who consider that $r = 0.10$ to 0.30 shows weak correlation; $r = 0.40$ moderate and $r = 0.70$ to 1 strong correlation.

RESULTS AND DISCUSSION

Historically, bivalve mollusks are recognized as effective tools used as sentinel organisms of xenobiotic compounds in coastal waters (Rocha & Rocha, 2016). In the present study, two different species were tested for pollutants concentration in order to provide information about their particular capabilities as potential contaminants biomonitors. According to the obtained data, all the contaminants showed values above the detection limit in both species of bivalves (Table 1 and 2).

Table 1. Contaminant concentrations obtained in mussels

	<i>As</i> (mg/Kg)	<i>Cd</i> (mg/Kg)	<i>Pb</i> (mg/Kg)	<i>Cu</i> (mg/Kg)	<i>Cr</i> (mg/Kg)	<i>Fe</i> (mg/Kg)	<i>Ni</i> (mg/Kg)	<i>Zn</i> (mg/Kg)	<i>Hg</i> (ug/Kg)	<i>PAH</i> (ug/Kg)
Average	4.41	0.05	12.48	20.23	5.02	1387.67	8.06	89.1	n.d.	283.01
Minimum	2.37	0.05	0.39	5.3	0.30	145.2	3.4	5	n.d.	96.94
Maximum	8.95	0.05	156.62	38.8	52.22	5435.5	24	390.6	n.d.	988.76
Composite samples	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14

Table 10 Contaminant concentrations obtained in oysters

	<i>As</i> (mg/Kg)	<i>Cd</i> (mg/Kg)	<i>Pb</i> (mg/Kg)	<i>Cu</i> (mg/Kg)	<i>Cr</i> (mg/Kg)	<i>Fe</i> (mg/Kg)	<i>Ni</i> (mg/Kg)	<i>Zn</i> (mg/Kg)	<i>Hg</i> (ug/Kg)	<i>PAH</i> (ug/Kg)
Média	4.85	0.47	0.55	142.68	0.77	191.38	0.85	2569.14	n.d.	116.29
Mínimo	1.98	1.9	0.27	67.8	0.21	94.3	0.5	1177.3	n.d.	88.38
Máximo	8.61	8.6	1.26	257.3	6.21	531.6	2.1	5074.1	n.d.	138.62
Composite samples	13	13	13	13	13	13	13	13	14	13

The As concentrations were extremely similar between both species, with the average concentration in mussels being 4.41mg/Kg and 4.85mg/Kg for oysters. Additionally, the statistical test showed p value above 0.05 ($p = 0.5446$) confirming the non-significant variation between both species. The variability also cannot be considered significant between species in the cases of Cr and Pb ($p = 2.2752$ and $p = 3.105$, respectively). Even so, in both cases the mussels showed higher levels with maximum concentrations of 52.22 and 156.62 mg/Kg , respectively (Table 1).

Bivalves such as mussels and oysters may present different capacities for contaminants accumulation, metabolism and excretion (Guangyuan, 2017). In mussels, trace metals are likely

to be absorbed both from solution mainly from ingested phytoplankton and other suspended particles, that comprises sizes ranging between 1µm to 4mm. Some authors used this argument to justify the mussel higher capacity to accumulate toxic compounds, once, oysters are more selective filter-feeders (Ruelas-Inzunza and Páes-Ozuna, 1998; Kehrig et al., 2006).

In the present study, this tendency was highlighted in the case of Ni and Fe, when the statistical test showed significance regarding the variation between species ($p = 0.0000$ and $p = 0.0062$). Nickel concentrations ranged between 3.4 and 24 mg/Kg in mussels. In oysters the values were lower, varying between 0.5 and 2.1 mg/Kg. Iron levels, on the other hand, varied between 145.2 and 5435.5 mg/Kg in mussels and between 94.3 and 531.6 mg/Kg in oysters (Tables 1 and 2). Particularly in the case of iron, this metal remains mainly in particulate oxide form in water, which is its most stable form in oxygenated water column at near neutral pH values (Boyle et al. 1977; Hunter 1983; Dai and Martin 1995). So, although much particulate Fe tends to accumulate in estuarine sediments, a portion can still be transported through estuaries to the coastal ocean (Sanders et al. 2015) remaining available to be assimilated by filter organisms. Nickel, on the other hand, presents the maximum efficiency of metal removal through estuarine flocculation process (Hasani et al., 2017). Thus, it is expected that for both elements, as recorded in the present study, and for the other metals that the concentration in suspended particulates is the most important water column phase (Zhang et al., 2014) influencing the metals incorporating process, for the filtering organisms, especially for mussels.

In contrast to the aforementioned metal accumulation pattern, Cd, Cu and Zn showed significantly higher values in oysters ($p = 0.000$ for the three metals) (Table 2 e Figure 2). Cadmium recorded its maximum value in oysters, with levels reaching 8.6mg/Kg. In the case of mussels, the values were relatively low, varying around the detection limit of the method (Table 1). The bioaccumulation of some trace metals in bivalve tissues can be directly connected to the different metabolic processes occurring within specific cell types in target tissues, resulting in different bioconcentration patterns (Rainbow, 2006).

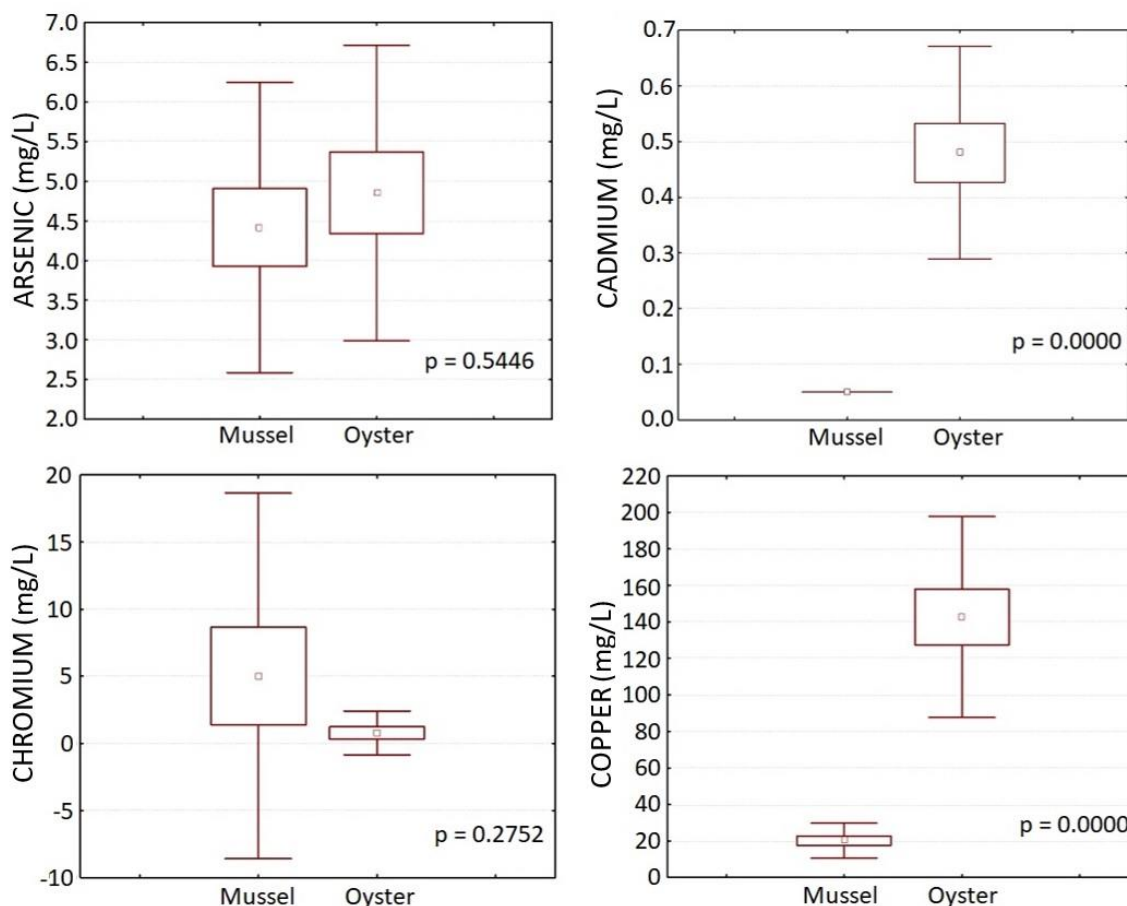


Figure 2. Variation of contaminants in bivalves' samples (As, Cd, Cr and Cu)

The heavy metals bioconcentration in bivalves varies among metals in the same mollusk species and among species (Luoma and Rainbow, 2005) as a result of the physiologic role of certain metals and to specific strategies of accumulation (Rainbow, 2002). In this scenario, it is obvious that Zn and Cu are essential elements and play important roles in the growth and cell metabolism of most animals including bivalves (Unlu et al., 2008; Priya et al., 2011). In the particular case of Zn, oysters accumulate this metal in detoxified granules, a form in which the bioavailability to subsequent predators is relatively low. Zn is an essential element for animals and is an important component of many enzymes, whereas the mollusks store Cu and use it in the synthesis of haemocyanin, a blood pigment (Yap et al., 2008).

Like the present study, other authors have already observed the greater capacity of oysters to accumulate specific metals, especially Cu and Zn (Rojas et al., 2005). According to the literature, oysters can tolerate very high metal concentrations, without apparent detrimental effects (Lin and Hsie 1999, Soto-Jimenez et al. 2001), what could answer its capacity to

concentrate higher levels of Cd, as recorded in the present study. Still, Rojas et al. (2005) suggested that some mussel species present regulation mechanisms to control the levels of heavy metals in their tissue. Consequently, they may not reflect with great accuracy the levels in environment to which they are exposed. The same argument was used by Shirneshan and Bakhtiari (2012). The authors published that the pattern of the studied metal accumulation (Pb, Zn, Cu and Cd) in the tissues suggested that oyster may retain Cu and Zn within its body. For others metals like Pb, on the other hand, the process is reversed, as confirmed in the present study (Figure 3). Still, the varied heavy metal levels found in Santos Bay, between oyster and mussel samples, could be resulted by the different affinities of the elements to the binding sites of the metallothioneins. Metallothionein consists of a low-molecular-weight protein present in organisms including bivalves and is involved in the intracellular regulation of metals such as Cu, Zn, and Cd (Khatai et al., 2012).

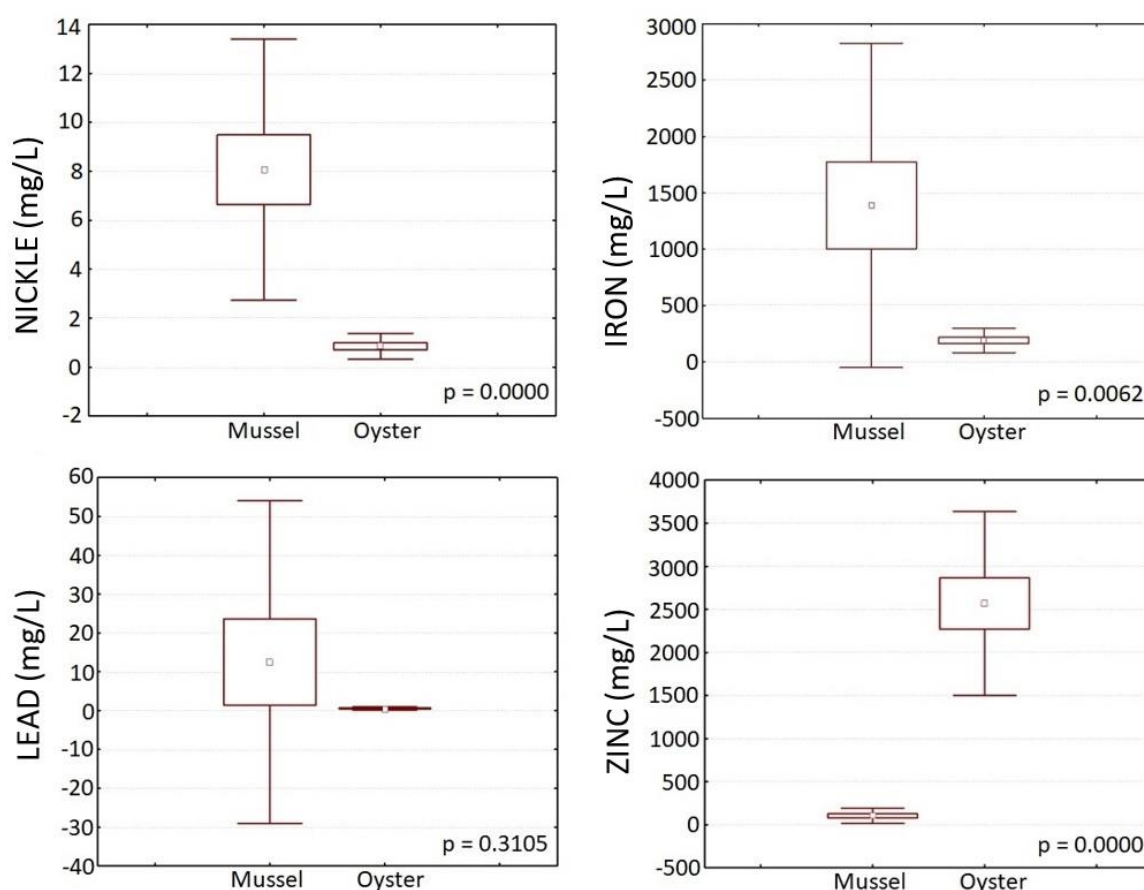


Figure 3. Variation of contaminants in bivalves' samples (Ni, Pb, Zn and Fe)

Metallothionein (MT) production has been shown to be induced by metal enrichment in numerous marine species (Figure 3). For this reason, its application as biomarkers of metal

exposure, have come into use recently (Cosson and Amiard 2000). It is generally reported that the basic role of MT is the homeostasis of essential metals such as Cu and Zn (Tanguy et al., 2003). This protein is also involved in the detoxification of non-essential metals such as Ag, Cd and Hg (Roesijadi 1992, Cosson & Amiard, 2000, Khati et al., 2012). So, in the present study, the high concentration of Cd found in the oyster soft tissue may be related to Cd detoxification process in mollusks (Engel, 1999; Apeti et al., 2005). Several authors observed significant relationships between free cadmium ion concentrations and MT in aquatic invertebrates (Lecoeur et al., 2004; Barrera-Escorcia and Wong-Chang, 2010) and, as well as between certain essential metals (Cu, Zn) known as MT synthesis initiators (Geret et al., 2002).

MT level varies considerably between tissues within the same bivalve species, as has been shown for the clam *Ruditapes decussatus* (Bebiano et al. 1993), the Asiatic clam *Corbiculafluminea* (Baudrimont et al. 1997), the Japanese oyster *Crassostrea gigas* (Mouneyrac et al. 1998, Geffard, 2001), and the mussels *M. galloprovincialis* (Raspor et al. 1999) and *M. edulis* (Geffard, 2001).

The literature has suggested that the length and type of exposure presents a direct effect on the ability of bivalves to depurate accumulated hydrocarbons. Under conditions of short-term exposure to contaminants, research has revealed the rapid degradation of these compounds. (Stegeman and Teal 1973, Stainken 197, Boehm et al., 1982). On the other hand, under conditions of chronic exposure, bivalves do not always readily lose their accumulated burden (Boehm and Quinn 1977).

In the present study, HPA concentrations varied between 96.94 and 988.76 ug/Kg in mussel samples and between 88.38 and 138.62 ug/Kg in oyster samples. The concentrations of PAHs measured in the present study in mussel samples revealed significative levels of contamination of the bivalve samples. According to the recorded data, the environment must be subject to chronic contamination by hydrocarbons, since the levels found are in the same magnitude as the values exposed in the literature in contaminated environments (Tanaka and Onduka, 2010; Moschino et al., 2011; Ito et al., 2015). In the same way as presented in Osaka Bay in Japan, the concentrations obtained in mussels were significantly higher than in oysters (Ito et al., 2015).

The statistical analysis classified the variation between species as significant ($p = 0.0393$). The differences in concentrations recorded in the present study could be attributed to the distinct habitats of mussel and oyster sampling, since the sampling stations of both species in the present

study are not coincident due to their availability areas. On the other hand, the mentioned stations are not so far apart, which should not influence variations. Even so, some authors suggested a difference in the hydrocarbon's concentration dynamic between oyster and mussel's species (Jack et al., 2005). According to the authors, oysters consist of sedentary organisms and grow on mangrove roots, pillars of bridges and on any permanent structure in the marine environment. Mussels, on the other hand, are mostly found on sea bed being bottom feeders. Thus, based on this argument, mussels would tend to accumulate lower concentrations of hydrocarbons, since these compounds tend to float in the short term, turning oysters into organisms most exposed to this type of pollution. Again, this situation can't be considered in the present study, once both sampled species were sampled in the same depth.

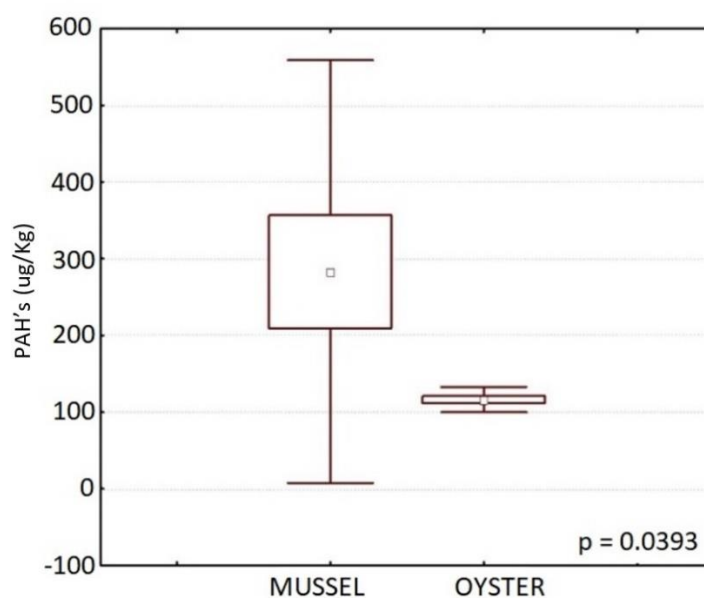


Figure 4. Variation of PAH' levels in bivalves' samples

Finally, as in the case of other pollutants, (Figure 4) the hydrocarbon bioconcentration dynamics may be linked to its hydrophobic character, which makes these compounds to associate with other suspended particles present in the water column, favoring their accumulation in sediments and in the lipid tissue of organisms (Rubio-Clemente et al. 2014). As mussels are less selective in their filtration process, they would be more prone to assimilation of polycyclic aromatic hydrocarbons.

In order to confirm the common processes of assimilation and concentration of particular pollutants groups in the samples, Pearson's correlation was applied (Tables 3 and 4). The

obtained results confirmed the hypothesis of association of certain contaminants with floating particles, in the case of mussels. The hydrophobic character of hydrocarbons turned this group of compounds in an effective tracer for this bioaccumulation path. So, the significative correlation results for these compounds with Pb, Cr and Fe, suggests this process as the predominant assimilation way. In oysters, on the other hand, the production of metallothionein presented itself as a determining element, through the direct correlation between Zn and Cd, both stimulants of the production of this protein, according to the literature, what makes oysters more capable of accumulating these metals, without lethal physiological damages.

Table 3. Correlation between mussel heavy metal levels data

	<i>As</i>	<i>Cd</i>	<i>Pb</i>	<i>Cu</i>	<i>Cr</i>	<i>Fe</i>	<i>Ni</i>	<i>Zn</i>	<i>HPA</i>
<i>As</i>	1								
<i>Cd</i>	-	1							
<i>Pb</i>	0,0228	-	1						
<i>Cu</i>	-0,3540	-	0,5680	1					
<i>Cr</i>	0,0041	-	0,9981	0,5928	1				
<i>Fe</i>	-0,2375	-	0,8193	0,7752	0,8478	1			
<i>Ni</i>	0,1962	-	0,2406	0,0866	0,2301	0,1055	1		
<i>Zn</i>	0,2083	-	0,1956	-0,2278	0,1798	0,0053	0,8124	1	
<i>HPA</i>	-0,2337	-	0,7446	0,6178	0,7688	0,9095	0,1237	0,0827	1

Table 4. Correlation between oyster heavy metal levels data

	<i>As</i>	<i>Cd</i>	<i>Pb</i>	<i>Cu</i>	<i>Cr</i>	<i>Fe</i>	<i>Ni</i>	<i>Zn</i>	<i>HPA</i>
<i>As</i>	1								
<i>Cd</i>	-0,0086	1							
<i>Pb</i>	-0,0756	-0,0895	1						
<i>Cu</i>	0,6586	-0,0462	-0,0304	1					
<i>Cr</i>	-0,2369	-0,3386	-0,1406	-0,3428	1				
<i>Fe</i>	-0,1711	-0,1667	-0,0261	-0,2687	0,0237	1			
<i>Ni</i>	-0,2195	-0,0728	0,7396	-0,0662	-0,0547	0,1439	1		
<i>Zn</i>	-0,1832	0,9188	-0,1219	-0,0155	-0,4056	-0,0394	0,0158	1	
<i>HPA</i>	-0,4283	0,0620	0,3850	-0,5170	0,3201	0,0591	0,4918	-0,0094	1

CONCLUSION

In the present study the concentrations found in the mollusks, in some cases, can be considered significantly high, confirming the industrialized character of the estuarine complex.

The obtained results proved that the dynamics of accumulation of contaminants is particular to each polluting organism and compound. The present study indicated that *Perna perna* mussels

may be better indicators of environmental pollution than *Crassostrea rhizophorae* oysters for some metals (Iron and Nickel) and hydrocarbons. However, the ability of oysters to bioaccumulate zinc and cadmium may be used to reflect longer term exposure to environmental contamination by these metals. The application of either of these organisms as biological indicators of heavy metal contamination in local coastal waters will require further investigations to develop the protocols for their use.

Because environment geochemistry is dynamic and particle assimilation represents an important exposure route, monitoring of mussel and oyster tissue should occur continuously, to assess the extent of metal pollution in Santos Bay.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by SNP (Secretaria Nacional de Portos). The authors are as well thankful for the Geology Department/LAGEMAR at UFF (Universidade Federal Fluminense) for the infrastructure and administrative support.

REFERENCES

- Apeti D A, Johnson E, Robinson L (2005) A Model for Bioaccumulation of Metals in *Crassostrea virginica* from Apalachicola Bay, Florida. *Am J Environ Sci* 1: 239-248
- Apeti D A, Lauenstein G G, Christensen J D, Kimbrough K, Johnson W E, Kennedy M, Grant K G (2010) A historical assessment of coastal contamination in Birch Harbor, Maine based on the analysis of mussels collected in the 1940 and the Mussel Watch Program. *Mar Pollut Bull* 60: 732–742
- Azevedo J S, Braga E S, Favaro D T, Perretti A R, Rezende C E, Souza C M M (2011) Total mercury in sediments and in Brazilian Ariidae catfish from two estuaries under different anthropogenic influence. *Mar Pollut Bull* 62(12): 2724-2731
- Barletta M, Lima A R A, Costa M F (2019) Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in South American estuaries. *Sci Total Environ* 651: 1199–1218

Barrera-Escorcía G, Wong-Chanh I (2010) Lipid peroxidation and metallothionein induction by chromium and cadmium in Oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) from Mandinga Lagoon, Veracruz. *Hidrobiológica* 20(1): 31-40

Baudrimont M, Metivaud J, Maury-Brachet R, Ribeyre F, Boudou A (1997) Bioaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury. *Environ Toxicol Chem* 16: 2096-2105

Bebiano M J, Not, J A, Langston W J (1993) Cadmium metabolism in the clam *Ruditapes decussata*: the role of metallothioneins. *Aquat Toxicol* 27: 315-334

Bícego M C, Taniguchi S, Yogui G T, Montone R C, Silva D A M, Lourenço R A, Martins C C, Sasaki S T, Pellizari V H, Weber R R (2006) Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. *Mar Pollut Bull* 52(12): 1784–1832

Boehm P D, Quinn J G (1977) The persistence of chronically accumulated hydrocarbons in the hard-shell clam *Mercenaria mercenaria*. *Mar Biol* 44: 227-233

Boehm P D, Barak J E, Fiest D L, Elskus A A (1982) A chemical investigation of the transport and fate of petroleum hydrocarbons in littoral and benthic environments: the Thesis oil spill. *Mar Environ Res* 6: 157-188

Boyle E A, Edmond J M, Sholkovitz E R (1977). The mechanism of iron removal in estuaries. *Geochim Cosmochim Acta* 41: 1313–1324

Buruaem L M, Castro Í B, Hortellan M A, Taniguchi S, Fillmann G, Sasaki S T, Petti M A V, Sarkis, J E de S, Bícego M C, Maranhão L A, Davanso M B, Nonato E F, Cesar A, Costa-Lotufo L V, Abessa D M de S (2013) Integrated quality assessment of sediments from harbour areas in Santos-São Vicente Estuarine System, Southern Brazil. *Estuar Coast Shelf Sci* 130(20): 179-189

Buruaem L, Abessa D (2014) Water toxicity assessment of Santos Bay under different climate conditions. *Ecotox Environ Contam* 9: 51-57

Cao, C, Wang, WX, 2016. Bioaccumulation and metabolomics response in oysters *Crassostrea hongkongensis* impacted by different levels of metal pollution. *Environ Pollut* 216: 156 – 165

Cosson R P., Amiard J C (2000) Use of metallothioneins as biomarkers of exposure to metals. In Use of Biomarkers for Environmental Quality Assessment, edited by L. Lagadic, T. Caquet, J. C. Amiard and F. Ramade (Enreld, New Hampshire: Science Publishers, Inc.), pp. 79-111

Dai M-H, Martin J-M (1995) First data on trace metal level and behaviour in two major Arctic river–estuarine systems (Ob and Yenisey) and in the adjacent Kara Sea, Russia. *Earth Planet Sci Lett* 131:127–141

Dancey C, Reidy J (2006) *Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows*. Porto Alegre, Artmed

Engel D W (1999) Accumulation and cytosolic partitioning of metals in the american oyster *Crassostrea virginica*. *Mar Environ Res* 47:89-102

Farrington J W, Tripp B W, Tanabe S, Subramanian A, Sericano JL, Wade TL, Knap AH, Edward, D, 2016. Goldberg's proposal of “the mussel watch”: Reflections after 40 years. *Mar Pollut Bull* 11: 501-510

Foster-Smith R L (1975) The effect of concentration of suspension and inert material on the assimilation of algae by three bivalves. *J Mar Biol Assoc* 55: 411-418

Geffard A, Amiard-Triquet C, Amiard J C (2001) Temporal variations of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of oysters *Crassostrea gigas* from a clean and a metalrich sites. *Biomarkers*, 6(2): 91-107

Geffard A, Amiard JC, Amiard-Triquet C (2002) Use of metallothionein in gills of oysters (*Crassostrea gigas*) as a biomarker: seasonal and intersites fluctuations. *Biomarkers* 7: 123-137

Geret F, Serafim A, Barreira L, Bebianno MJ (2002). Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Mar Environ Res* 54: 413-417

Guangyuan L. (2017) Heavy Metals in Bivalve Mollusks. 10.1016/B978-0-08-100674-0.00021-7.

GUILHERME, G. et al. **Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos**. Tópicos em ciências do solo. Viçosa, v. 4, p. 345-390, 2005.

Hossain M B, Ahmed A S S, Sarker M S I (2018) Human health risks of Hg, As, Mn, and Cr through consumption of fish, Ticto barb (*Puntius ticto*) from a tropical river, Bangladesh. *Environ Sci Pollut R* 25: 31727–31736

Hosseini SV, Aflaki F, Sobhanardakani S, Tayebi L, Babakhani LA, Regenstein JM(2013) Analysis of mercury, selenium and tin concentrations in canned fish marketed in Iran. *Environ Monit Assess* 85: 6407-6412

Hunter KA (1983) On the estuarine mixing of dissolved substances in relation to colloid stability and surface properties. *Geochim Cosmochim Acta* 47: 467–473

Ito K, Uno S, Tanaka H, Miki S, Kokushi E, Yamamoto M, Koyama J, Añasco N C (2015) Distribution of Parent and Alkylated PAHs in Bivalves Collected from Osaka Bay, Japan, *Japanese J of Environ Toxic* 18(2): 11-24

Jack I R, Fekarurhobo G K, Igwe F U, Okorosaye-Orubite K (2005) Determination of total hydrocarbons levels in some marine organisms from some towns within the Rivers State of Nigeria. *J Appl Sci Environ Mgt* 9 (3): 59 – 61

Jing Y, Wang WX (2015) Biokinetics and metallothionein-like proteins responses in oysters facing metal challenges in an estuary. *Environ Toxicol Chem* 34: 1818-1825

Kehrig H A, Costa M, Moreira I, Malm O (2006) Total and methyl mercury in different species of molluscs from two estuaries in Rio de Janeiro State. *J Braz Chem Soc* 17, 1409-1418

Khan, MD, Masiol M, Angelika P B (2014) Harmful Elements in Estuarine and Coastal Systems. 10.1007/978-94-017-8965-3_2.

Khati W, Ouali K, Mouneyrac C, Banaoui A (2012) Metallothioneins in Aquatic Invertebrates: Their Role in Metal Detoxification and their Use in Biomonitoring. *Energy Procedia* 18:784–794

Lecoeur S, Videman B, Berny P (2004) Evaluation of metallothionein as a biomarker of single and combined Cd/Cu exposure in *Dreissena polymorpha*. *Environ Res* 94:184-191

Lin S, Hsieh IJY (1999) Occurrences of green oyster and heavy metals contaminant levels in the Sien-San Area, Taiwan. *Mar Pollut Bull* 38: 960-965

Luoma SN, Rainbow OS (2005) Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environ Sc Technol* 39: 1921-1931

Mason AZ, Jenkins KD (1995) Metal detoxification in aquatic organisms. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, edited by A. Tessier and D. R. Turner (Chichester: John Wiley & Sons), pp. 479-608

Moschino V, Delaney E, Meneghetti F, Da Ros L (2011) Biomonitoring approach with mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) and clam *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) in the Lagoon of Venice. *Environ Monit Assess* 177: 649–63

Mouneyrac C, Amiard J C, Amiard-Triquet C (1998) Effects of natural factors (salinity and body weight) on cadmium, copper, zinc and metallothionein-like protein levels in resident populations of oysters *Crassostrea gigas* from a polluted estuary. *Mar Ecol Prog Ser* 162: 125-135

O'Conner TP (1992) *Mussel Watch: Recent Trends in Coastal Environmental Quality*. Silver Spring, MD: National Oceanic and Atmospheric Administration, 46

Otchere FA (2019) A 50-year review on heavy metal pollution in the environment: Bivalves as bio-monitors. *African Journal of Environmental Science and Technology* 13(6): 221 – 227

Priya SL, Senthilkumar B, Hariharan G, Selvam AP, Purvaja R, Ramesh R (2011) *Toxicol Indust Health* 27: 117-126

Rainbow OS (2002) Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what? *Environ Poll* 120: 497-507

Rainbow P (2007) Trace metal bioaccumulation: Model, metabolic availability and toxicity. *Environ Int* 33: 576-82

Raspor B, Pavicic J, Kozar Z, Paic M, Odzak N, Ujevic I, Kjakovic Z (1999) Assessment of metal exposure of marine edible mussels by means of a biomarker. In *Metallothionein IV*, edited by C. Klaassen (Basel: Birkhäuser Verlag), pp. 629-632

Rocha S M, Rocha C A M (2016) Micronucleus test in bivalve mollusks as an important tool for xenobiotic exposure risk assessment. *Acta Fish Aquat Res* 4(1): 70-79

- Roesijadi G (1992) Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicology* 22: 81-114
- Rojas de Astudillo L, Chang Yen I, Bekele I (2005). Heavy metals in sediments, mussels and oysters from Trinidad and Venezuela. *Rev Biol Trop* 53
- Rubio-Clemente A, Torres-Palma RA, Peñuela GA (2014) Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous environment by chemical treatments: a review. *Sci Total Environ* 478: 201–225
- Ruelas-Inzunza J, Páez-Osuna F (1998) Barnacles as Biomonitors of Heavy Metal Pollution in the Coastal Waters of Mazatlán Harbor (Mexico). *Bull Environ Contam Toxicol* 61: 608–615
- Senez-Mello TM, Crapez MAC, Ramos e Silva CA, Silva E T, Fonseca E M (2020) Heavy metals bioconcentration in *Crassostrea rhizophorae*: A site-to-site transplant experiment at the Potengi estuary, Rio Grande do Norte, Brazil. *Sci Rep* 10: 246
- Shirneshan G, Riyahi B A (2012) Accumulation and distribution of Cd, Cu, Pb and Zn in the soft tissue and shell of oysters collected from the northern coast of Qeshm Island, Persian Gulf, Iran. *Chemical Speciation and Bioavailability* 24(3): 129-138
- Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R (2011) Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol* 43: 246-253
- Soto-Jimenez M, Paez-Osuna F, Morales-Hernandez F (2001) Selected trace metals in oysters (*Crassostrea iridescens*) and sediments from the discharge zone of the submarine sewage outfall in Mazatlán Bay (southeast Gulf of California): chemical fractions and bioaccumulation factors. *Environ Pollut* 114: 357-370
- Stegeman JJ, Teal JM (1973) Accumulation, release and retention of petroleum hydrocarbons by the oyster *Crassostrea virginica*. *Mar Biol* 22: 37-44
- Tallarico L de F, Passos F D, Machado F M, Campos A, Recco-Pimentel S M, Introíni G O. Bivalves of the São Sebastião Channel, north coast of the São Paulo state, Brazil. *Check List* 10(1): 97-105
- Tanaka H, Onduka T (2010) Background Levels of PAHs in the coastal waters of Japan based on residual concentrations of bivalves. *J Environ Chem* 20: 137–48

Tanguy A, Boutet I R R, Boudry P, Auffret M, Moraga D (2003) Metallothionein genes in the European flat oyster *Ostrea edulis*: a potential ecological tool for environmental monitoring. *Mar Ecol Prog Ser* 257: 87-97

Trevisan R, Mello DF, Delapiedra G, Silva DGH, Arl M, Danielli NM, Metian M, Almeida EA, Dafre A L (2016). Gills as a glutathione-dependent metabolic barrier in Pacific oysters *Crassostrea gigas*: Absorption, metabolism and excretion of a model electrophile. *Aquat Toxicol* 173: 105-119

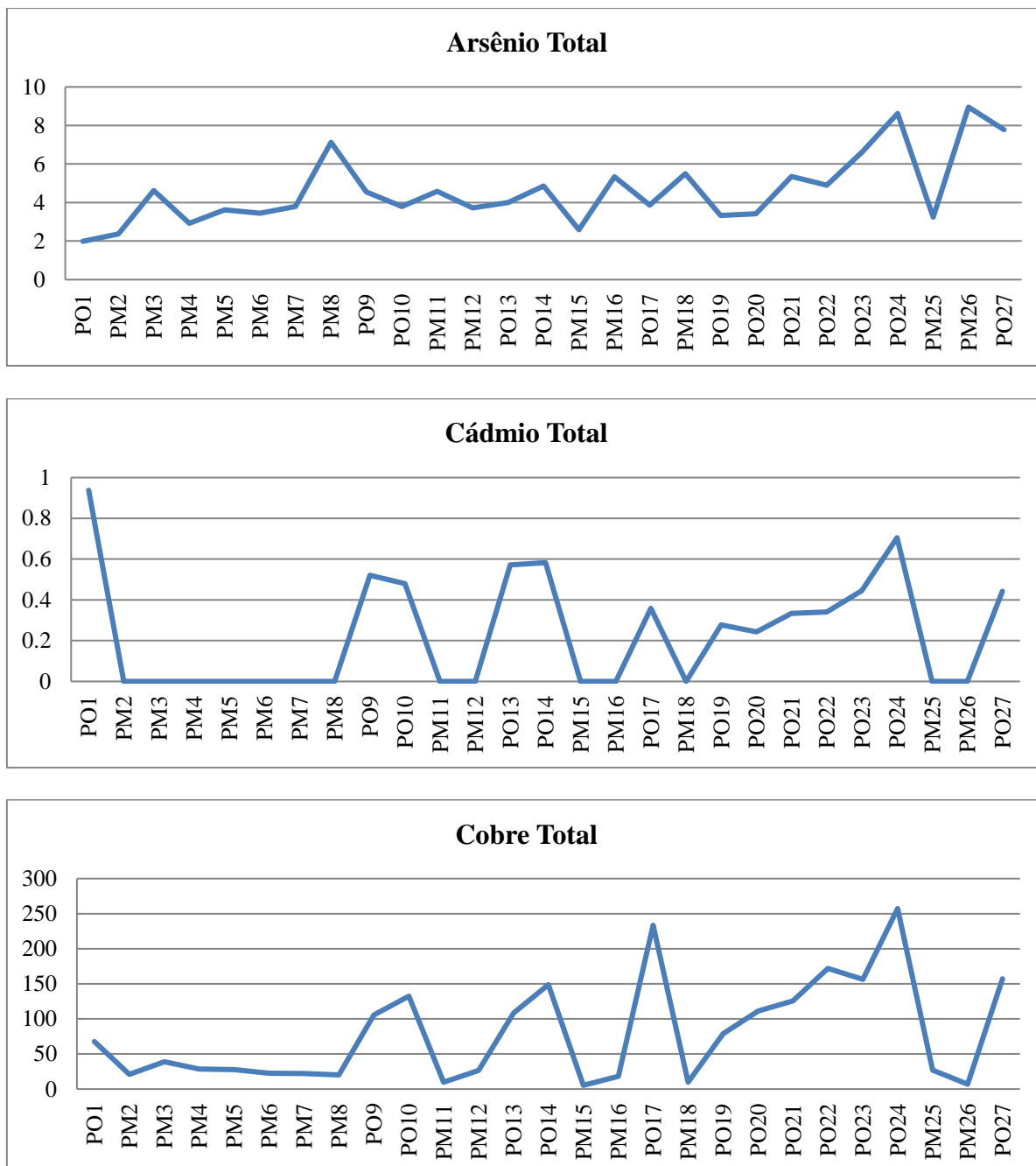
Unlu S, Topcuoglu S. Alpar B, Kirbasoglu C, Yilmaz Y Z (2008) Heavy metal pollution in surface sediment and mussel samples in the Gulf of Gemlik. *Environ Monit Assess* 144: 169-178

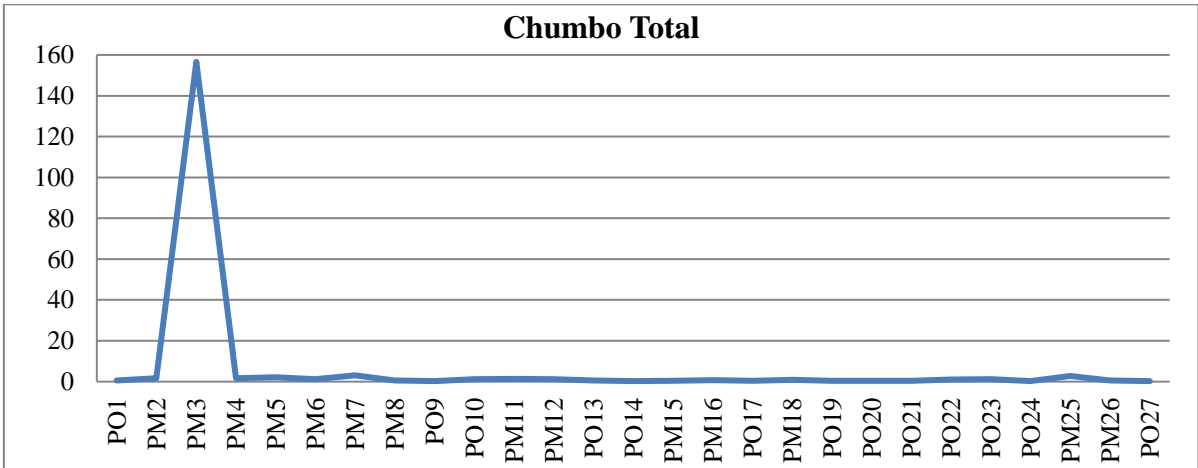
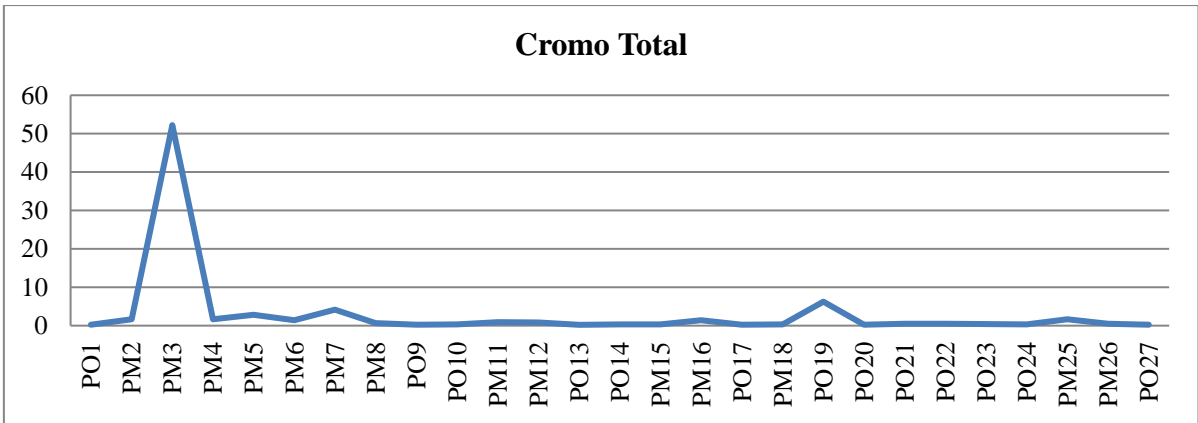
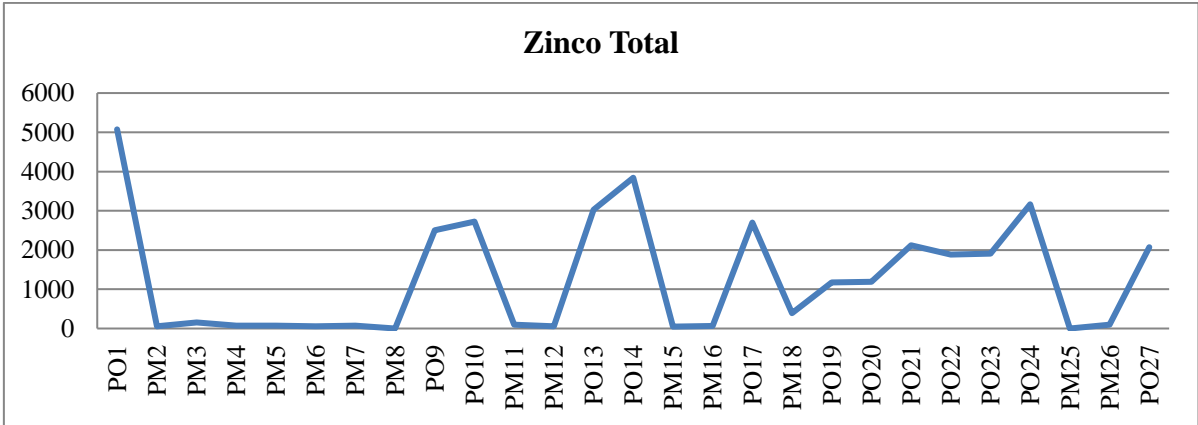
Yap C K, Noorhaidah A, Azlan A, Nor Azwady A A, Ismail A, Ismail A R, Siraj SS, Tan S G (2008) *Telescopium telescopium* as potential biomonitors of Cu, Zn, and Pb for the tropical intertidal area. *Ecotoxicol Environ Safety* 72: 496-506

Zhang N, Zang S, Sun Q (2014) Health risk assessment of heavy metals in the water environment of Zhalong Wetland, China. *Ecotoxicology* 23: 518–526

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura 1S - Concentrações de elementos traço (mg/Kg - peso seco) bioacumulados em ostras *Crassostrea rhizophorae* e em mexilhões *Perna perna* no sistema estuarino de Santos (SP- Brasil), por ponto de amostragem.





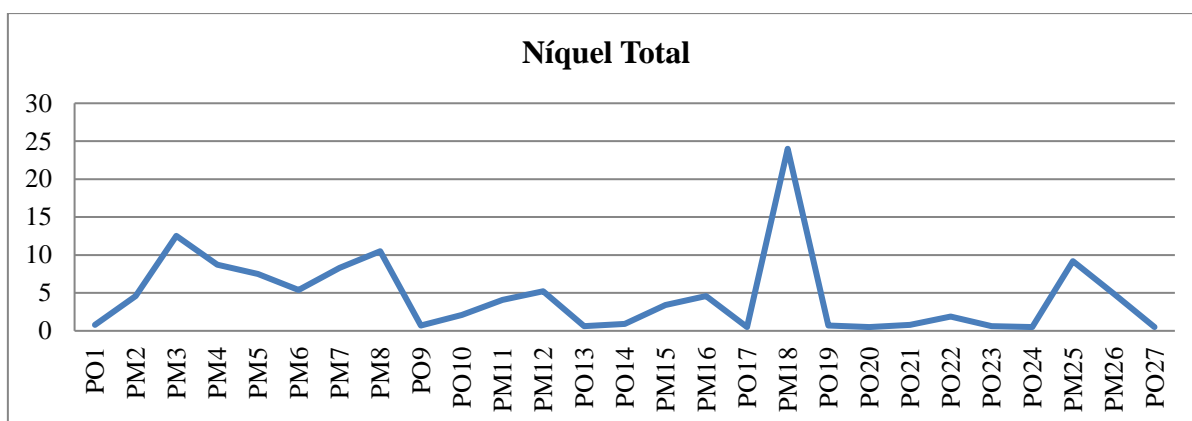
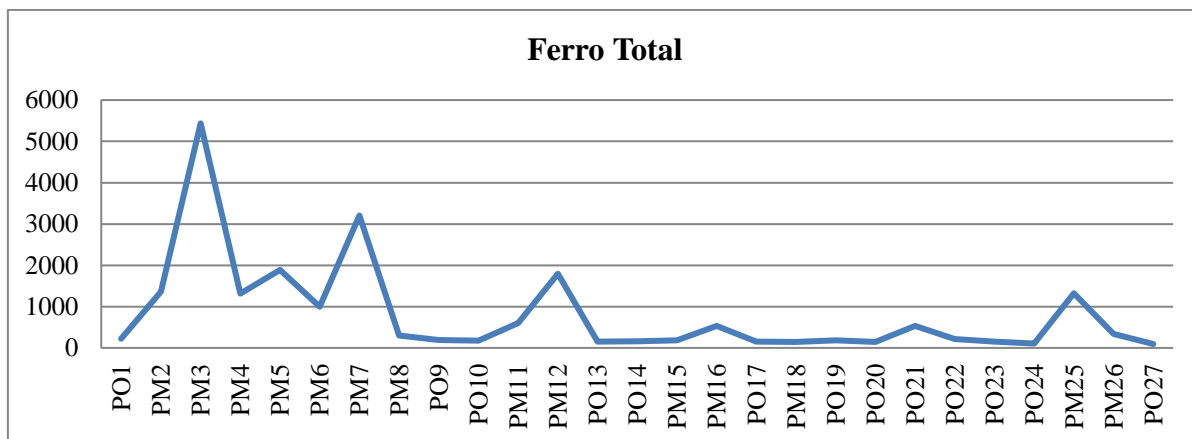


Figura 2S - Concentrações de HPAs ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) bioacumulados em ostras *Crassostrea rhizophorae* e em mexilhões *Perna perna* no sistema estuarino de Santos (SP- Brasil), por ponto de amostragem.

