



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA- UEPB
CAMPUS I- CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE- CCBS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

GUSTAVO ALEF DANTAS PALMEIRA

**IDENTIFICAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM *Anomalocardia flexuosa*
(LINNAEUS, 1767) (MOLLUSCA, BIVALVIA) NO ESTUÁRIO DO RIO
MAMANGUAPE – PB/BRASIL**

**CAMPINA GRANDE/PB
2019**

GUSTAVO ALEF DANTAS PALMEIRA

**IDENTIFICAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM *Anomalocardia flexuosa*
(LINNAEUS, 1767) (MOLLUSCA, BIVALVIA) NO ESTUÁRIO DO RIO
MAMANGUAPE – PB/BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Estadual da
Paraíba, em cumprimento às exigências
para obtenção do grau de Licenciado em
Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Joseline Molozzi
Coorientadora: Me. Eliane de Andrade
Araújo Pereira

**CAMPINA GRANDE/PB
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

P172i Palmeira, Gustavo Alef Dantas.
Identificação de poluentes orgânicos em *Anomalocardia flexuosa* (LINNAEUS, 1767) (Mollusca, Bivalvia) no estuário do Rio Mamanguape – PB/Brasil [manuscrito] / Gustavo Alef Dantas Palmeira. - 2019.
27 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Profa. Dra. Joseline Molozzi, Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."
"Coorientação: Profa. Ma. Eliane de Andrade Araújo Pereira, Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."
1. Poluentes orgânicos persistentes. 2. *Anomalocardia flexuosa*. 3. Agrotóxicos. 4. Bioacumulação. I. Título
21. ed. CDD 577.6

GUSTAVO ALEF DANTAS PALMEIRA

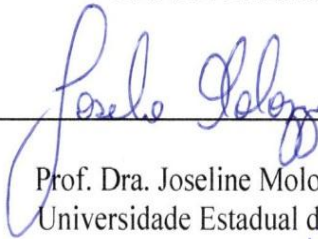
IDENTIFICAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM *Anomalocardia flexuosa*
(LINNAEUS, 1767) (MOLLUSCA, BIVALVIA) NO ESTUÁRIO DO RIO
MAMANGUAPE – PB/BRASIL

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Estadual da
Paraíba, em cumprimento às exigências
para obtenção do grau de Licenciado em
Ciências Biológicas.

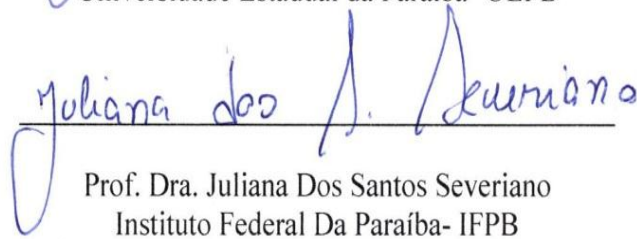
Área de concentração: Ecologia

Aprovada em: 03/06/2019.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Joseline Molozzi (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba- UEPB



Prof. Dra. Juliana Dos Santos Severiano
Instituto Federal Da Paraíba- IFPB



Prof. Me. Marcos Medeiros Cavalcanti Junior
Universidade De Brasília- UnB

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01. Morfologia interna e externa do bivalve da família Veneroidea,.....	13
FIGURA 02. Localização geográfica do estuário do rio Mamanguape, Paraíba, Brasil.....	15
FIGURA 03. Espécie <i>Anomalocardia flexuosa</i> separados por classe de tamanho	16
FIGURA 04. Método utilizado para o prepara de amostras (QuEChERS)	17

LISTA DE TABELAS

QUADRO 1. Substâncias identificadas em <i>Anomalocardia flexuosa</i>	19
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CG/EM-** Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.
FAO- Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação.
LAQUISA- Laboratório de Química Sanitária e Ambiental.
POP- Poluentes orgânicos persistentes.
PAH- Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
2 OBJETIVO.....	10
2.1 Objetivo específico.....	10
3 REFERENCIAL TEORICO.....	11
3.1 Espécie <i>Anomalocardia flexuosa</i>.....	11
3.2 Poluentes Orgânicos Persistentes.....	13
3.3 Bioconcentração.....	14
4 MATERIAL E MÉTODOS	14
4.2 Área de estudo.....	14
4.2 Procedimentos de amostragem e de laboratório.....	15
4.3 Método analítico.....	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	21
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22

AGRADECIMENTOS

Ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua própria produção ou a sua construção.

Hoje eu agradeço por ter sido ensinado, tendo assim através do estudo diversas possibilidades para minha construção, também por ter sido ensinado, e agora aprendendo a ensinar.

Quero agradecer primeiramente a Deus por ter sempre me dado forças em todas as situações, e me iluminado a todo momento, e por ter pessoas sempre me apoiando e me incentivando a buscar o meu sonho, e também por ter saúde perseverança e fé.

Agradeço desde já a minha família, que sempre me deu forças, que sempre quando pensava em desistir, eles me aconselhavam a seguir em frente, que me manterão e me sustentaram a todo tempo que estava na graduação, e o mais importante nunca me deixou faltar amor, e incentivo, uma família que sempre se completou como se fosse um equilíbrio, onde todos teriam que está presente, obrigado a minha mãe Ana Lucia Dantas Palmeira, ao meu pai, Aluísio Palmeira Tomaz, e aos meus irmãos Luan Pablo Dantas Palmeira, e Luana Raissa Dantas Palmeira, por fazerem parte de minha vida, e estar nela por segurar minha mão e por estar realizando esse meu sonho comigo.

Obrigado também a Fabiano, Beti, Caio e Karina que são amigos/colegas que sempre esteve ao meu lado nessa caminhada, aos meus amigos da rua São Paulo, um agradecimento em especial a turma UBUNTU que é uma turma que vai ficar marcado na história da UEPB, onde todos se ajudam, onde seguem em frente juntos, e sim faz jus do nome UBUNTU, agradeço também a galera do FUNDÃO, Elder, Ste, Lays, Naty, Iuri e Adila, que foram os que me acolheram que me fizeram se sentir bem na turma e na UEPB, e que divide todos os dias comigo grandes momentos de risadas e brincadeiras e diversos momentos, são meus irmãos da UEPB, Agradecimento também a diversos outro colegas da UEPB.

Agradeço também na minha vida acadêmica a minha orientadora Joseline Molozzi, por ter me dado a oportunidade de trabalhar/estudar ao lado dela, a minha coorientadora Eliane de Andrade, por ter acreditado em mim, mesmo quando dei motivos para ela desistir, e por ter me ensinado muito.

Agradeço a todas pessoas do LEB, por terem feito parte do meu aprendizado e do meu crescimento profissional. E agradeço a professora Cibelle Flavia, uma pessoa que não só ver você como aluno e sim como ser humano, obrigado Cibelle por tudo que você, me ajudou e me ensinou, e principalmente, por esta me tornando um educador, um verdadeiro professor.

Por fim agradeço a Universidade Estadual da Paraíba- UEPB, por ter me dado a oportunidade de ensino, não só a mim como a muitas outras pessoas, uma Universidade que sim pode ter seus altos e baixos como qualquer outra, mais que sim é composta por grandes educadores, que fazem a UEPB ser o que ela é hoje.

“A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo de busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria. ”

(Paulo Freire)

**IDENTIFICAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM *Anomalocardia flexuosa*
(LINNAEUS, 1767) (MOLLUSCA, BIVALVIA) NO ESTUÁRIO DO RIO
MAMANGUAPE – PB/BRASIL**

Resumo

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são substâncias utilizados de modo não intencional através de atividades agrícolas como ocorre na cultura de cana-de-açúcar ou até por indústrias. Algumas são filtradas por espécies de macroinvertebrados bentônicos, como por exemplo o molusco *Anomalocardia flexuosa* (LINNAEUS, 1767) que é uma espécie bivalve e filtradora, essa espécie tem uma ampla distribuição no litoral brasileiro. O objetivo do estudo foi conhecer quais os poluentes orgânicos presentes em *A. flexuosa* no estuário do Rio Mamanguape – Paraíba. Em que as espécies foram coletadas na APA do rio Mamanguape, através disso foram levadas para laboratório. Na qual foram separadas por classe de tamanho, para realização do preparo da amostra, e também para o processo de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS), para identificação das substâncias na espécie. Após esses procedimentos, se teve a presença das substâncias, em que a classe que mais apresentou substâncias foi a de menores indivíduos. Foi identificadas substâncias que são consideradas poluentes orgânicos persistentes como o ftalano, hexadecano, que são utilizadas na produção de pesticidas e fungicidas, também a presença de substâncias provenientes de combustíveis como o Dodecano, houve também a presença de substâncias Benzenofenona e Beclometasona que são utilizadas na fabricação de remédios, para tratar de doenças em seres humanos. Essas substâncias são utilizadas por diversos tipos de atividades que são desenvolvidas nas margens do estuário, e que trazendo impactos negativos para esse ecossistema aquático, também para fauna, e para os seres humanos como perturbações que podem gerar problemas endócrinos e cancerígenos.

Palavras chave: Cromatografia gasosa, Bioacumulação, Agrotóxicos.

**IDENTIFICATION OF ORGANIC POLLUTANTS IN *Anomalocardia flexuosa*
(LINNAEUS, 1767) (MOLLUSCA, BIVALVIA) IN THE ESTATE OF RIO
MAMANGUAPE - PB / BRAZIL**

ABSTRACT

Persistent organic pollutants (POPs) are substances that are used unintentionally through agricultural activities such as growing sugarcane or even industries. Some are filtered by species of benthic macroinvertebrates, such as the mollusk *Anomalocardia flexuosa* (LINNAEUS, 1767), which is a bivalve and filtering species, this species has a wide distribution in the Brazilian coast. The objective of the study was to know which organic pollutants are present in *A. flexuosa* in the Mamanguape - Paraíba River estuary. In that the species were collected in the APA of the river Mamanguape, through this they were taken to the laboratory. They were separated by size class for preparation of the sample and for gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC / MS) for the identification of substances in the species. After these procedures, if the presence of the substances was present, in which the class that presented the most substances was that of smaller individuals. It has been identified substances that are considered persistent organic pollutants such as phthalan, hexadecane, which are used in the production of pesticides and fungicides, also the presence of substances from fuels such as Dodecane, there were also substances Benzonfenone and Beclomethasone that are used in the manufacture of medicines, to treat diseases in humans. These substances are used by various types of activities that are developed along the estuary, and which have negative impacts on this aquatic ecosystem, also for fauna, and for humans as disturbances that can cause endocrine and carcinogenic problems.

Keywords: Gas chromatography, Bioaccumulation, Pesticides.

1 INTRODUÇÃO

Os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) são substâncias químicas, que podem ser provenientes de diversos meios, como por exemplo através de indústrias ou atividades agrícolas, podendo ser liberadas no meio ambiente por meio de atividades realizadas por seres. Os POPs ao serem liberados no meio ambiente possuem características de alta persistência devido as propriedades químicas que os compõem, e não são facilmente degradados (MMA, 2011).

Os POPs podem ser transportados por longas distâncias pelo ar, água e solo, e possuem uma hidrofobicidade dependente, fazendo com que eles possuam alta afinidade com as partículas orgânicas e inorgânicas presentes na coluna de água, e por serem substâncias lipofílicas podem se acumularem facilmente em tecidos gordurosos de organismos vivos, sendo toxicologicamente preocupantes para a saúde humana e o meio ambiente (FRESEN, 1983; MMA, 2011; et al., BALLSCHMITER).

Em ambiente aquáticos, como ecossistema estuarinos, que são ecossistemas lóticos reconhecidos como corpo de águas semifechados, na qual ocorre uma mistura de água doce e água salgada (ATTRILL, 2002; POTTER et al., 2010). Em que parte desses estuários estão sujeitas a ocupação humanas, onde se tem práticas de atividades urbanas, industriais e agrícolas que são realizadas nas margens dos estuários, onde podem modificar a qualidade desses ecossistemas, trazendo diversos impactos ambientais negativos para diversidade espécies, que ali habitam (MIL-HOMENS et al., 2014).

Os poluentes ao serem liberados nos estuários, podem ser transportados através da coluna de água e atingir os invertebrados bentônicos através de adsorção de material particulado em suspensão, seguido da sedimentação (WANIA e DALY, 2002). Estes animais têm um maior potencial de acumulação de poluentes por conta do seu modo de vida e elevada diversidade trófica (WILD SMITH et al., 2011). Grande parte dos invertebrados bentônicos possui hábitos sedentários, permitindo que estes animais acumulem poluentes ao longo da vida. Desta forma a macrofauna bentônica é um componente importante para os estuários, pois eles atuam decompondo a matéria orgânica sendo também considerados como bons indicadores biológicos (NUNES et al., 2008; WILD SMITH et al., 2011; TWEEDLEY et al., 2012).

O bivalve *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) é uma espécie dioica, que possui uma fisiologia alimentar filtradora (SILVEIRA, 2013), se alimentam de partículas em suspensão na coluna d'água, onde pode ingerir grandes quantidade de

substâncias, que dependendo da característica dessas substâncias, pode-se acumular em suas partes moles. Parte dessas partículas ingeridas pelo o *A. flexuosa*, vai ser excretada na forma de pseudo-fezes, que seria as partículas que não foram assimiladas pelo organismo (POLI et al., 2004). Essa espécie também possui uma ampla distribuição ao longo da costa brasileira, pode ser encontrada em baías e enseadas habitando fundos arenosos e lodosos ou em áreas de baixo hidrodinamismo da zona mesolitoral, ela também é comercializada e faz parte da dieta alimentar dos seres humanos (RIOS, 1994; NARCHI, 1972; BOEHS, MAGALHÃES, 2004; DENADAI et al., 2006; SILVEIRA, 2013).

Alguns estudos apontam que dados morfométricos, como o tamanho do corpo é bom indicador, na avaliação quanto aos impactos causados pelo extrativismo, assim como, pela capacidade de bioacumulação ao longo do desenvolvimento das espécies, e que podem influenciar na adsorção que seria a absorção de substâncias e na desorção que seria a eliminação de substâncias do organismo da espécie (LOBEL et al., 1991; PHILLIPS E RAINBOW, 1993; RIGET, 1996).

O estudo sobre os poluentes orgânicos persistentes- POPs relacionados as espécies de macroinvertebrados bentônicos são de grande importância, pois através de estudos assim, pode se verificar e analisar se tem a presença de substâncias em ecossistemas aquáticos, e também pode- se avaliar o impacto causado por esses poluentes, em espécies que estão presentes no meio ambiente como também para os seres humanos, que em grande parte utilizam do meio ambiente com das espécies como um meio de sobrevivência.

2 OBJETIVO GERAL

Identificar quais os poluentes orgânicos presentes em *A. flexuosa* no estuário do Rio Mamanguape – Paraíba.

2.1 Objetivos específico.

- Analisar qual é a classe de tamanho que mais apresentou Poluentes Orgânicos Persistentes;
- Verificar quais são as substâncias que podem ser provenientes de agrotóxicos em *A. flexuosa*;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Espécie *Anomalocardia flexuosa*.

A espécie *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) é um molusco bivalve, dioico que pertencem à família Veneridae a qual possui doze subfamílias e aproximadamente cinquenta gêneros e cerca de 500 espécies. O *A. flexuosa* possui ampla distribuição ao longo da costa brasileira. Essa espécie de bivalve também tem fácil adaptação a diferentes meios, o que os permitem habitar fundos arenosos e lodosos, viver em áreas onde a ação de ondas e correntezas são menores, e podem sobreviver à uma profundidade de 0,5 a 1,5 m em como também em bancos de areia (NARCHI, 1972; RIOS, 1994; CANAPA et al., 1996; BOEHS, MAGALHÃES, 2004, RODRIGUES, 2010, SILVEIRA, 2013).

DIVISÃO TAXONOMICA

REINO *Animalia*

FILO *Mollusca*

CLASSE *Bivalvia*

SUBCLASSE *Heterodonta*

INFRACLASSE *Euheterodonta*

SUPERORDEM *Imparidentia*

ORDEM *Venerida*

SUPERFAMILIA *Veneroidea*

FAMILIA *Veneridae*

GENERO *Anomalocardia*

ESPÉCIE *Anomalocardia flexuosa*

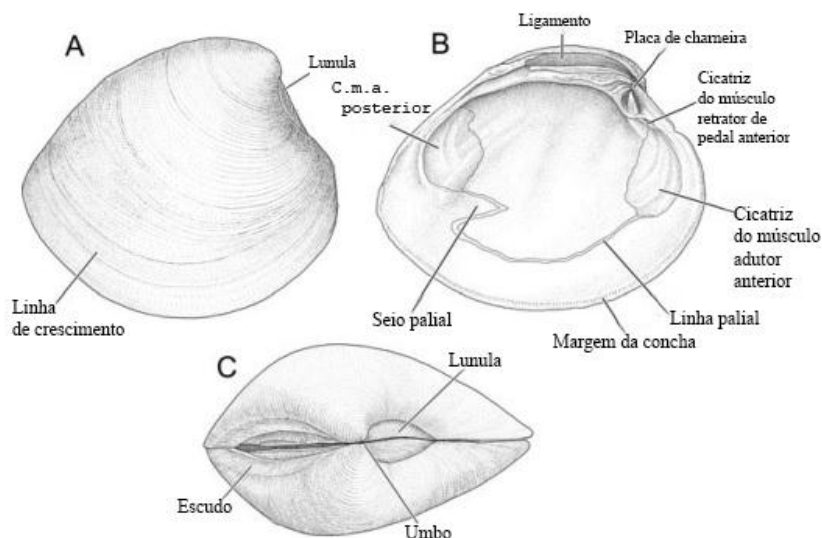
O *A. flexuosa* possui uma concha com formato trigonal, inflada, sólida, com uma forte carena radial que delimita a região dorsal posterior de sua concha (Figura 1) (BARACHO, 2016). A espécie tem a presença também de umbos no terço anterior, com angulosos, lúnula cordiforme, delimitada por sulco sutil. Possui também escudo tem

uma conferência longa, ampla, delimitada por uma quilha inconspícua. A escultura é constituída por costelas comarginais baixas que se estreitam ou bifurcam próximo à carena e se prolongam pelo declive posterior, e porestrias radiais fracas. A sua coloração externa pode variar em tons de creme ou mais amarelada, com desenhos de cores diferenciadas, formando desenhos diversos (DENADAI et al., 2006).

Os músculos que estão localizados nas partes adutores posteriores e adutor anterior possuem marcas arredondadas e oval-alongadas, o período de reprodução da espécie é anual. E possuem uma reprodução externa sexuada com ciclo de vida denominado complexo, pois passam por um estágio larval curto que pode durar, de 11 a 30 dias (DENADAI et al., 2006). A espécie possui uma fisiologia alimentar filtradora, o que permite que ela possa filtrar pequenas partículas em suspensão na coluna d'água, dessa forma ele pode ingerir grandes quantidade de substâncias orgânicas e inorgânicas.

As substâncias são ingeridas através de um sifão exalante, que leva a água e as partículas para dentro da cavidade do manto, e parte desses componentes ingeridos vai ser eliminado na forma de pseudo-fezes (POLI et al., 2004), que consistem em partículas rejeitadas associadas à um muco proteico. Por filtrar partículas em suspensão essas espécies, tem facilidade em bioconcentrar substâncias endógenas em suas partes moles, e esse tipo de substâncias podem trazer diversos problemas tanto para a espécie, mas como também para os seres que à tem como fonte de alimentação, pois a espécie também faz parte na alimentação de alguns seres humanos por serem de fácil localização e captura, onde são exploradas diversas regiões do país, tanto para subsistência quanto para a comercialização (PESO 1980, POLI et al., 2004, DENADAI et al., 2006, SILVEIRA, 2013,).

Figura 1. Estruturas da concha do molusco bivalve da família Veneroidea. (A) vista interna da valva esquerda, (B) vista externa da valva direita, (C) vista dorsal.



Fonte: Adaptada por Dantas 2019 (Mikkelsen1 et al., 2006).

3.2 Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs)

Os poluentes orgânicos persistentes são muito estudados pois eles podem incluir substâncias sintéticas de diferentes e de vários grupos químicos, dentre esses grupos a Convenção de Estocolmo listou algumas diversidades de POPs, que são considerados prioritários por terem um alto poder bioacumulativo, e também por serem os mais persistentes, dentre essa diversidade nós temos os pesticidas organoclorados, como por exemplo (Aldrin, Dieldrin, Endrin, Clordano, Heptacloro, DDT, Toxafeno e Mirex), esses pesticidas fazem parte do grupo de hidrocarbonetos clorados que possuem um alto peso molecular, e isso faz com que eles possam permanecer por muito tempo nos ambientes marinhos, e com o tempo penetrar se acumular nos tecidos de algumas espécies de animais que ali estão presentes (CLARK, 2001).

Esses POPs em alguns mamíferos, podem causar deformações como por exemplo no fígado, como também aberrações no metabolismo, sem falar também que essa contaminação pode se dar através da cadeia alimentar, por meio de um processo chamado de biomagnificação, que implica no acúmulo crescente de substâncias dos níveis mais baixos para os mais altos da cadeia trófica (MELLINK et al., 2009).

Atualmente o Brasil é citado pela FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), como um dos países que utilizam mais pesticidas, e grande parte desses poluentes são utilizados na agricultura na forma de pesticidas que é considerado “agrotóxicos”, principalmente no cultivo de cana-de-açúcar onde isso faz com que ocorra o processo de escoamento desses pesticidas através do solo para as margens de rios, chegando até estuários (FOLHA S. P., 1998, WHO, UNICEF, 2000).

3.3 Bioconcentração

O termo bioconcentração se refere ao processo de acumulação de substâncias, onde muitas das substâncias bioacumuladas podem ser tóxicas para os organismos. Esse processo pode trazer diversos problemas, quando relacionamos com os pesticidas, pois muitos deles são poucos solúveis em água, e quando são lançados nos ecossistemas aquáticos tendem a ser adsorvidos no sedimento e ficar por longos tempos, podendo ser bioacumuladas por espécies que ali habitam (AMYOT et al., 1996, LARSON et al., 2002). A persistência de substâncias no meio ambiente, como por exemplo em um ecossistema aquático, tem capacidade de bioconcentrar em organismo devido ao seu caráter lipofílico, e a incorporação dessas substâncias no meio ambiente e na cadeia alimentar de espécies resulta no processo de bioacumulação. (KENT e JOHNSON 1979; GRAY et al. 1992). O processo de bioconcentração é determinado as substâncias encontrada no meio ambiente e nos tecidos de alguns animais, sendo que alguns animais podem acumular substâncias em concentrações diretamente com a mesma proporção às encontradas no meio ambiente, o que os pode tornar reguladores de concentrações (MASUTTI et al., 2000).

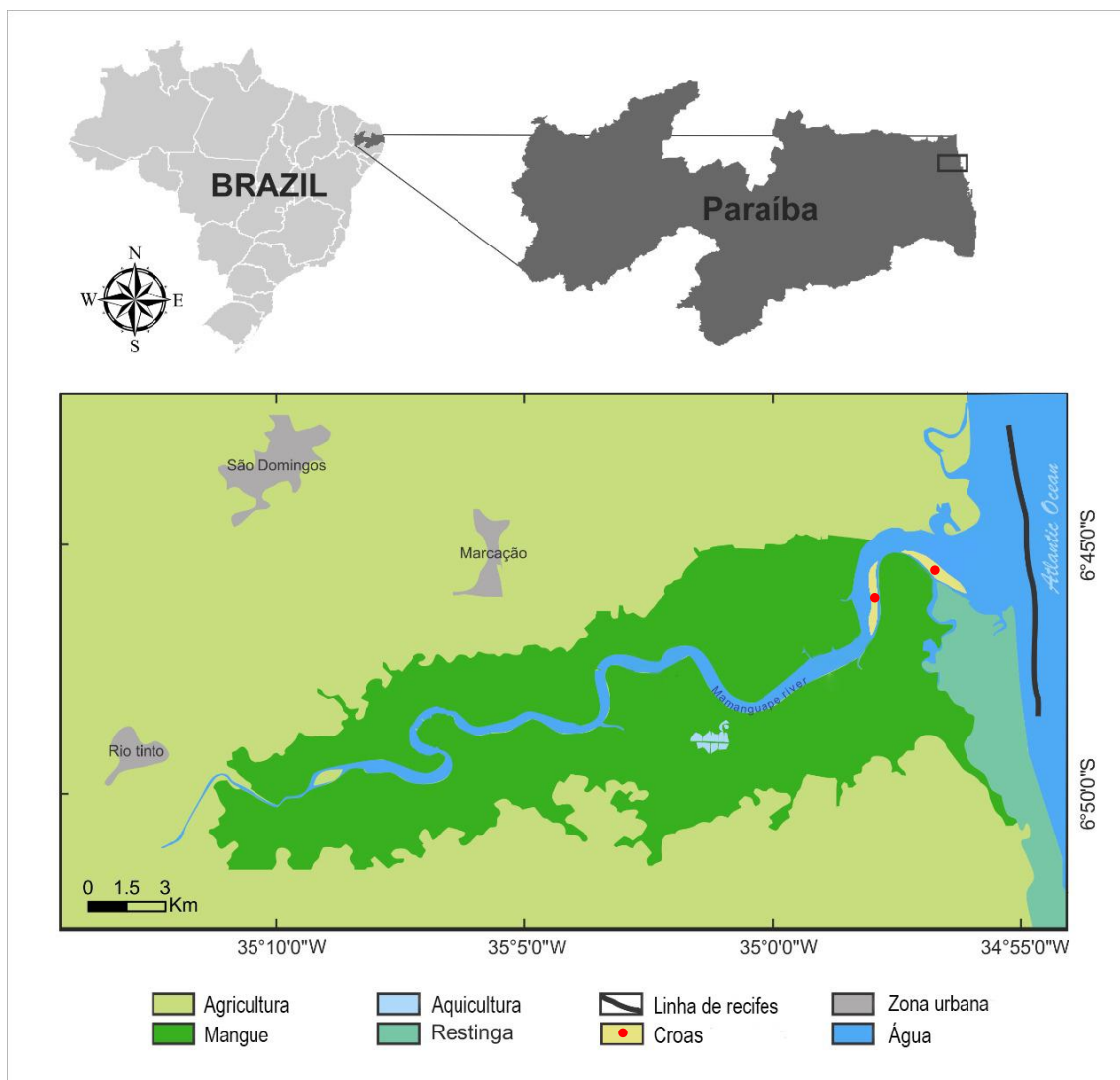
4 MATERIAIS E METODOS

4.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no estuário do rio Mamanguape ($6^{\circ}43'02''$ e $6^{\circ}51'54''$ S; $35^{\circ}67'46''$ e $34^{\circ}54'04''$ O), localizado no litoral paraibano. O estuário compreende uma área de 16 400 ha, e faz parte da Área de Proteção Ambiental (APA) da Barra de Mamanguape (Figura 2). A região de Mamanguape possui a maior área de mangue do estado da Paraíba, embora tenha sido observada a retirada da vegetação para

extração da madeira por ribeirinhos, além de plantações de cana-de-açúcar e atividades de carcinicultura (ROCHA et al., 2008).

Figura 2: Localização geográfica do estuário do rio Mamanguape, Paraíba, Brasil.



4.2 Procedimentos de amostragem e de laboratório

4.2.1 Amostragem em *Anomalocardia flexuosa*

Para identificação dos poluentes, no bivalve *A. flexuosa* foram coletados 120 exemplares manualmente, através de pescadores em duas croas, ao longo do estuário em dezembro de 2017. Em seguida, as amostras foram acondicionadas sob refrigeração a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ainda em campo e transportadas até o laboratório de Química Sanitária e Ambiental (LAQUISA), localizado na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários – EXTRABES -Universidade Estadual da Paraíba/ PB, Brasil

onde ficaram armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em laboratório ocorreu a caracterização morfométrica de *A. flexuosa*. Dos quais foram realizadas medições com o auxílio de um paquímetro, sendo medidas duas variáveis: altura e largura das valvas. A espécie *A. flexuosa* foi classificada utilizando o critério de largura das valvas, e assim foram separadas em três classes de tamanho que compreenderam de 1,0 a 2,0 cm; 2,1 a 2,4 cm e $> 2,41\text{ cm}$ (Figura 3). Posteriormente, a espécie *A. flexuosa* tiveram suas valvas separadas no laboratório com auxílio de uma espátula de aço inoxidável. Após abertura dos bivalvas e retirado as suas partes moles, as amostras foram então trituradas e posteriormente seguiram para execução método QuEChERS para extração dos poluentes.

Figura 3. *Anomalocardia flexuosa* separados por classe de tamanho.



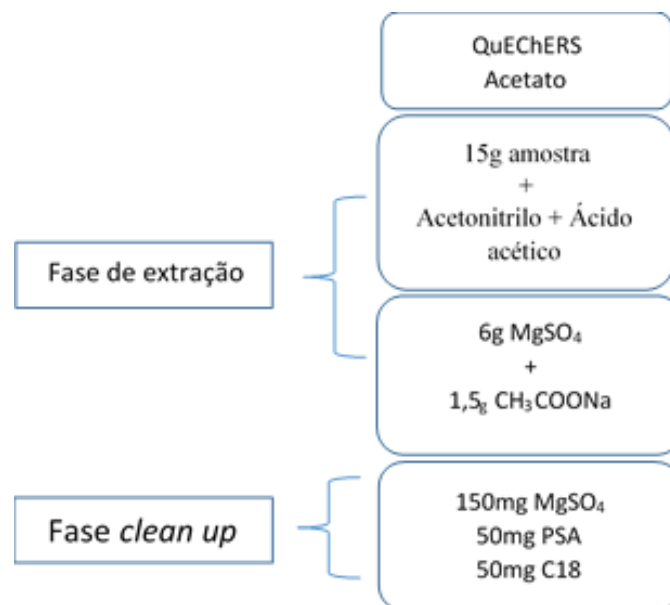
4.2.2 Procedimento de extração QuEChERS

O processo de extração dos analitos em *A. flexuosa* foi baseado no método QuEChERS (ANASTASSIADES *et al.* 2003). Os reagentes utilizados para a fase *Clean up* do método QuEChERS, foram adquiridos da Agilent (Part Number 5982-5122) (Figura 4). Esse método para preparação de amostra se deu por duas fases, uma fase de extração que é caracterizado por utilizar 15 g da amostra com a adição de 15 ml do solvente polar acetonitrilo, que tem função de promover uma melhor extração dos analitos, com 1% de ácido acético, que tem função de acidificar o meio da amostra para que possa recuperar, os analitos de baixa estabilidade.

Foram adicionados também dois tipos de sais, sendo 6g de sulfato de magnésio (MgSO_4) e 1,5g de acetato de sódio (CH_3COON_a) que através desses sais, a extração dos analitos foram mais eficazes, e também esses sais foram responsáveis por separar a fase orgânica da aquosa da amostra. Após isso a amostra foi agitada com auxílio de um vortex, e foi rodada em uma centrífuga a 4 mil RPM, seguindo para fase *Clean up*, que teria como função a retirada das impurezas da amostra, para que esses resquícios não

passem para o cromatógrafo gasoso, e assim prolongando a vida útil do equipamento, seguido por uma extração em fase sólida dispersiva (d SPE) (LEHOTAY *et al*, 2007, 2005).

Figura 4. Método de preparo de amostras (QuEChERS)



4.3 Método analítico

4.3.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

As análises foram realizadas em um cromatógrafo (Thermo Scientific, Trace 1300 GC) acoplado a um espectrômetro de massa (Single Quadrupole Mass Spectrometer). A coluna utilizada foi a Trace GOLD TG-5SILMS, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. A temperatura da coluna foi programada em 45 min, usando muitas rampas de 65°C com um equilíbrio inicial de tempo de 2 min para 180°C a 20°C por minuto até 280°C, a 5°C por minuto sendo a temperatura foi mantida por 5 min. A temperatura da porta do injetor foi ajustada a 250°C e ambos os recursos dos íons e a linha de transferência MS foram ajustados a 280°C. Como gás de arraste, foi utilizado o gás Hélio, com 99,99997% de pureza, com um fluxo constante de 1 ml/min. A injeção da amostra foi de 1 µl. A separação em Cromatografia Gasosa CG foi alcançada pela avaliação de diferentes rangers de temperatura e condições de injeção usando inicialmente o modo full-scan de espectro (50-500 m/z).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos alvos foram identificados a partir do tempo de retenção e pelo monitoramento dos íons principais obtidos durante o padrão de verificação completa, onde foram separados por classe de tamanho (Quadro 1). As substâncias foram separadas de acordo com as classes de tamanho, 1,0-2,0 cm, 2,1-2,4 cm, 2,41 cm, onde houve a presença (+) ou a ausência (-) de determinadas substâncias entre as classes de tamanho. A classe que mais apresentou as substâncias encontradas, foi a classe de tamanho de 1,0-2,0 cm que seria a menor classe, esse fato se dar pelo o motivo, que os indivíduos menores são os mais novos e tendem a absover mais substâncias para dentro do seu corpo através da filtração (Boyden, 1977). As substâncias encontradas foram, o ácido giberélico também chamado de (Giberelina, A3, GA, GA3). Este ácido é um tipo de composto hormônico, que são utilizados para ativação de processos de divisão celulares em plantas, e também de germinação e crescimento de sementes, tendo um alto poder bioacumulativo (NOORDMAN ET AL., 2002; WANG AND MULLIGAN, 2004; GAO ET AL., 2008).

Moléculas de ftalanos também foram identificadas, este poluente produz alguns composto como 3-isocromanonas que são utilizados para formações de fungicidas e pesticidas (TETRAHEDRON, 1995). Também foram identificados hexadecano, p-Chloroaniline, Dodecane e 2,4-di-terc-butilfenol. O hexadecano faz parte dos hidrocarbonetos alifáticos sendo considerados como um poluente. Ele é utilizado por indústrias e processos de urbanização, sendo comumente encontrados em estuários (WALSH ET AL., 1995). Por sua vez, o agente químico p-Chloroaniline é um composto que está incluído no OCDE-HPVC de 1997 (OECD, 1997). Ele é utilizado como intermediário por indústrias para fabricação de uma série de pesticidas, pigmentos e corantes azóicos, e também para produção de produtos farmacêuticos e cosméticos (BOEHNCKE, 2002).

Quadro 1. Substâncias identificadas em *Anomalocardia flexuosa* em classes de tamanho de 1,0-2,0 cm, 2,1-2,4 cm e >2,41 cm, com α^2 tempo de retenção de saída de cada analito, e a respectiva massa molecular das substâncias, e a formula por CG/MS. (Sendo + para presença da substância e – para ausência da substância).

Substâncias	Forma estrutural	<i>Anomalocardia flexuosa</i>			Tempo de retenção	Massa molecular	Formula
		Classes de tamanho					
		1,0-2,0 cm	2,1-2,4	>2,41			
Ftalano		+	+	+	5,69	120	C ₈ H ₈
Dodecano		+	+	+	6,38	170	C ₈ H ₈
p-Cloroanilina		+	+	-	7,99	127	C ₁₂ H ₂₆
Hexadecano		+	+	+	8,27	226	C ₆ H ₆ ClN
2,4-di-terc-butilfenol		+	+	+	8,77	206	C ₁₆ H ₃₄
Gibberellic acid		+	-	-	9,70	386	C ₁₄ H ₂₂ O
Benzofenona		+	-	-	10,03	346	C ₈ H ₈
Beclometasona		-	+	-	23,45	521	C ₂₈ H ₃₇ ClO ₇

O Dodecane é considerado um PAH (Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos), estando presente no petróleo e em matéria orgânica devido a atividades industriais. Desta forma, os PAHs podem facilmente bioacumular em espécies de invertebrados (PAYNE, 1977; VARANASI et al., 1985; FORSTER & WRIGHT, 1988; et al., LEVIN, 1982). O Benzophenone é encontrado em cosméticos e também são facilmente bioacumular em espécies de invertebrados bentônicos (KLASCHKA, 2012). Também foram encontradas substâncias provenientes de produtos farmacêuticos como beclometasona, que é considerado um glicocorticóides natural e sintético (GCs), que serve para tratar diversas doenças nos seres humanos (LU et al., 2006; BARNES, 2010)

No presente estudo, o poluente 2,4-di-terc-butilfenol foi identificado sendo considerado tóxico em um estudo realizado por Rizzo et al. (2017) onde foi observado a presença desta substância em uma área de reserva marinha localizada em Torre Guaceto na Itália, sendo encontrado na espécie *Diplodus sargus sargus*.

Os compostos, ftalano, o hexadecano, Chloroaniline, são utilizados por indústrias para formação de pesticidas e fungicidas. O ácido giberélico, que é um composto hormônico utilizado para estimulação de crescimentos de plantas. Nesse estudo também foi encontrado o Dodecano que é considerado um PAH que está presente no petróleo, também em matéria orgânica em decomposição. Por fim, tivemos a presença do Benzophenone que é encontrado em cosméticos.

Alguns estudos apontam que os POPs são muito conhecidos por serem tóxicos em fortes propensões para o processo de biomagnificação na cadeia alimentar, e são analisados por causarem perturbações tanto cancerígenas como endócrinas nos seres humanos (WEBER E GREIM, 1997). Também se tem uma grande preocupação com a presença dos POPs nos tecidos do corpo como por exemplo no tecido adiposo, e também em leite materno, que é utilizado na amamentação (ARCHIBEQUEENGLER et al., 1997; GLADEN et al., 1999).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, foi possível ver que as substâncias encontradas presente no *A. flexuosa* são utilizadas na fabricação de pesticidas, fungicidas e por atividades industriais também, e que todas elas possuem um alto poder de bioconcentrar nos ecossistemas aquáticos, e bioacumular nos tecidos das espécies *A. flexuosa*.

Dessa forma podemos afirmar também que uso de espécies de macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores ecológicos são de grande importância, principalmente a espécie *Anomalocardia flexuosa*, por ser uma espécie que suportar diversos impactos ambientais, e que ao separa em classes de tamanhos, mostrou-se que nos menores indivíduos houve maior concentração das substâncias.

Diante desses resultados, podemos ver também que se tem o uso dos agrotóxicos em atividades agrícolas nas margens do estuário, e que através do escoamento, essas substâncias chegam no estuário acarretando diversos fatores como por exemplo, problemas de saúde para os seres humanos que utilizam desse estuário como fonte de alimentação para suprir suas necessidades.

7 REFERÊNCIAS

ATTRILL, MARTIN J. A testable linear model for diversity trends in estuaries. *Journal of animal ecology*, v. 71, n. 2, p. 262-269, 2002.

AMYOT, M.; PINEL-AI LOUI, B.; CAMPBELLS, P.; DESY, J. Total metal burdens in the freshw ater amphipod *Gammarus fasciatus*: contribution of various body parts and influence of gut contents. *freshwater Biology*, v. 35, n. 2, p. 363- 373, 1996.

ANASTASSIADES M., LEHOTAY S. J., Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile. *journal of aoac international* (86) 412–431, 2003.

ARCHIBEQUE-ENGLE, S. L., TESSARI, J. D., WINN, D. T., KEEFE, T. J., NETT, T. M., AND ZHENG, T. 1997. Comparison of organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast adipose tissue and serum. *J. Toxicol. Environ. Health* 52:285–293.

BRASIL- Ministério do Meio Ambiente Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes Disponível em <http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/convencao-de-estocolmo>> Acesso em 11 jun. 2019.

BALLSCHMITER, K. ET AL. FRESEN. Z. ANAL. CHEM. 316, 242–246 (1983).

Barnes, P.J., 2010. Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 120, 76–85.

BOEHS, GUISLA; MAGALHÃES, AIMÊ RACHEL M. SYMBIONTS. associated with *Anomalocardia brasiliiana* (gmelin)(mollusca, bivalvia, veneridae) on santa catarina island and adjacent continental region, santa catarina, brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 21, n. 4, p. 865-869, 2004.

BOEHNCKE, A., KIELHORN, J., KÖNNECKER, G., POHLENZ-MICHEL, C., AND MANGELSDORF, I. concise international chemical assessment document. para-chloroaniline. who, genf., 2002.

BOYDEN, C. R. (1977). Effect of size upon metal content of shellfish. *J. Mar. BioL Ass. U.K.* 57, 675-714

BRASIL- Ministério do Meio Ambiente -2011. Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes Disponível em< <http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/convencao-de-estocolmo>> Acesso em 11 abril. 2018.

CRUZEIRO C., RODRIGUES-OLIVEIRA N., VELHOTE S., PARDAL M. Â., ROCHA E., ROCHA M. J. 1,2. development and application of a quechers-based extraction method for the analysis of 55 pesticides in the bivalve *scrobicularia plana* by gc-ms / ms. *anal bioanal chem*, 2016.

CLARK, R. B. 2001. **Marine Pollution**. 5^{ed} edition. Oxford University Press. 172p

- CANAPA, A.; MAROTA, I.; ROLLO, F.; OLMO, E. 1996. Phylogenetic-Phylogenetic analysis of Veneridae (Bivalvia): comparison of molecular and paleontological data. *J. Mol. Evol.* 43: 517-522.
- DENADAI, M.R.; ARRUDA, E.P.; DOMANESCHI, O.; AMARAL, C.Z. 2006. Veneridae (Mollusca, Bivalvia) da Costa Norte do Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, 6(3).
- EVENSET, A.; HALLANGER, I.G.; TESSMANN, M.; WARNER, N.; RUUS, A.; BORGÅ, K.; GABRIELSEN, G.W.; CHRISTENSEN G.; RENAUD P.E. Seasonal variation in accumulation of persistent organic pollutants in an Arctic marine benthic food web. *Science of the Total Environment* 542, 108–120, 2016.
- FORSTER, G. & WRIGHT, D. A. Unsubstituted polynuclear aromatic hydrocarbons in sediments, clams, and clam worms from Chesapeake Bay. *Mar. Pollut. Bull.* 19, 459-465. 1988.
- FOLHA DE SÃO PAULO. Caderno Agrofolha, 3 de março de 1998.
- GLADEN, B. C., SCHECHTER, A. J., PAPKE, O., SHKYRYAK-NZHYNK, Z. A., HRYHORCZUK, D. O., AND LITTLE, R. E. 1999. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and coplanar polychlorinated biphenyls in breast milk from two cities in Ukraine. *J. Toxicol. Environ. Health A* 58:119–127.
- KRYKAVSKY, E. V., & MASHCHAK, N. M. (2012). Indicators of cosmetics market ecologisation (350 pp). Lviv, Ukraine: Lviv polytechnic university (en ucraniano).
- KENT JC, JOHNSON DW (1979) Organochlorine residues in fish, water, and sediment of Americans Falls Reservoir, Idaho (1974). *Pestic Monit J* 13:28–33.
- LEHOTAY, S.J. “Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) Approach for Determining Pesticide Residues” in *Methods in Biotechnology*, v. 19, Pesticide Protocols, Martinez Vidal, J.L. and Garrido Frenich, A. (Eds.) *Humana Press*, Totowa, NJ, p.239-261, 2005.
- LEVIN, W., WOOD, A., CHANG, R., RYAN, D., THOMAS, P., YAGI, H., THAKKER, D., VYAS, K., BOYD, C., CHU, S-Y., CONNEY, A., & JERINA, D., 1982. Oxidative metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons to ultimate carcinogens. *Drug Metab. Rev.* 13 (4), 555-580.
- LEHOTAY, J.S.J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: Collaborative study *AOAC. Int.* 90, p. 485–520, 2007.
- LU, N.Z., WARDELL, S.E., BURNSTEIN, K.L., DEFRANCO, D., FULLER, P.J., GIGUERE, V., HOCHBERG, R.B., MCKAY, L., RENOIR, J.M., WEIGEL, N.L., WILSON, E.M., MCDONNELL, D.P., CIDLOWSKI, J.A., 2006. International Union of Pharmacology. LXV. The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: glucocorticoid, mineralocorticoid, progesterone, and androgen receptors. *Pharmacol. Rev.* 58, 782–797.

LARSON, S.J.; CAPEL, P.D.; MAJEWSKI, M.S. Pesticides in surface waters distribution, trends, and governing factors. Chelsea: Ann Arbor Press, 2002. 373p.

LOBEL, P. B., BAJDIK, C. D., JACKSON, S. E. and Longerich, H. P., 1991. Improved protocol for collecting mussel watch specimens taking into account sex, size, condition, shell, shape and chronological age. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 21(3): 409-414.

LARSON, S.J.; CAPEL, P.D.; MAJEWSKI, M.S. Pesticides in surface waters distribution, trends, and governing factors. Chelsea: Ann Arbor Press, 2002. 373p.

MELLINK, E.; RIOJAS-LÓPEZ, M.E.; LUÉVANO-ESPARZA, J. 2009. Organochlorine content and shell thickness in brown booby (*sula leucogaster*) eggs in the Gulf of California and the Southern Pacific coast of Mexico. Environmental Pollution 157, 2184-2188.

MASUTTI, M. B.; PANITZ, C. M. N.; PEREIRA, N. C. Biodisponibilidade e bioconcentração de metais-traço no manguezal de Itacorubi (Florianópolis, SC). In: ESPINDÓLA, E. L. G. et al. Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI. Editora Rima, 564 p. 2000.

MIL-HOMENS, M. et al. Major factors influencing the elemental composition of surface estuarine sediments: the case of 15 estuaries in Portugal. Marine pollution bulletin, v. 84, n. 1-2, p. 135-146, 2014.

NOORDMAN, W.H., WACHTER, J.H.J., DE BOER, G.J., JANSSEN, D. B. The enhancement by surfactants of hexadecane degradation by pseudomonas aeruginosa varies with substrate availability. j. biotechnol. 94, 195e 212, 2002.

NARCHI, WALTER. Comparative study of the functional morphology of anomalocardia brasiliiana (gmelin, 1791) and tivala mactroides (born, 1778) (Bivalvia, Veneridae). bulletin of marine science, v. 22, n. 3, p. 643-670, 1972.

NUNES, M. the macrobenthic community along a mercury contamination in a temperate estuarine system (ria de aveiro, portugal). science of the total environment, v. 405, n. 1, p. 186-194, 2008.

OECD. 1997. the 1997 oecd list of high production volume chemicals. organisation for economic co-operation and development, Paris.

POTTER, I. C. The concept of an estuary: a definition that incorporates systems which can become closed to the ocean and hypersaline. estuarine, coastal and shelf science, v. 87, n. 3, p. 497-500, 2010.

PESO, M.C. 1980. Bivalves comestíveis da Baía de todos os Santos: estudo quantitativo com especial referência à Anomalocardia brasiliiana (Gmelin, 1791) (Bivalvia:

Veneridae). 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1980.

POLI, C.R.; POLI, A.T.B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. A. (orgs.). 2004. Aquicultura: experiências Brasileiras. Florianópolis: Multitarefa. 456 p.

PHILLIPS, D. J. H. AND RAINBOW, P. S., 1993. Biomonitoring of trace aquatic contaminants. (London: Elsevier science publishers).

PAYNE, J. F. Mixed function oxidases in marine organisms in relation to petroleum hydrocarbon metabolism and detection. *mar. pollut. bull.* 8, 112-116, 1977.

RIOS, ELÍEZER DE CARVALHO. seashells of brazil. 2nd. Fundação universidade do rio grande, rio grande, 1994.

RODRIGUES, AML, AZEVEDO CM, SILVA GGH. Aspectos da biologia e ecologia do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Veneridae)R. bras. Bioci., Porto Alegre, v. 8, n. 4, p. 377-383, out./dez. 2010.

RIGET, F., JOHANSEN, P. AND ASMUND, G., 1996. Influence of length on element concentrations in the blue mussels (*Mytilus edulis*). *Marine Pollution Bulletin.* 32(10): 745-751.

RIZZO D., PENNETTAB A., BENEDETTO G. E. de accumulation of endocrine disrupting chemicals in the liver of *diploodus sargus sargus* in torre guaceto natural reserve. *Marine Pollution Bulletin.* 119(2): 219-222. doi: 10.1016, 2017.

ROCHA, M. DA S.P., MOURÃO, J. DA S., SOUTO, W. DE M.S., BARBOZA, R.R.D., ALVES, R.R. DA N., . O Uso dos Recursos Pesqueiros no Estuário do Rio Mamanguape, estado da Paraíba, Brasil. *Interciencia* 33, 903–907,2008.

SILVEIRA, P. C. B., MESQUITA B.; MELO L.; FILHO I. O.. Estuário, paisagem-fluxo de pescadores artesanais. *Illuminuras*, Porto Alegre, v. 14, n. 34, p. 304-323, ago./dez. 201.

TWEEDLEY, J. R. The use of benthic macroinvertebrates to establish a benchmark for evaluating the environmental quality of microtidal, temperate southern hemisphere estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, v. 64, n. 6, p. 1210-1221, 2012.

VEITH, G.D., D.L. DEFOE AND B.V. BERGSTEDT. 1979. Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals in fish. *J. Fish. Res. Board Can.* 36: 1040-1048.

VARANASI, U., REICHERT, W. L., STEIN, J. E., BROWN, D. W. & SANBORN, H. R. Bioavailability and biotransformation of aromatic hydrocarbons in benthic organisms exposed from an urban estuary. *environmental science and technology* 19. 836-841, 1985.

THAKKER, D., VYAS, K., BOYD, C., CHU, S-Y., CONNEY, A., & JERINA, D. Oxidative metabolism polycyclic aromatic hydrocarbons to ultimate,1982.

WANIA, F., DALY, G.L. Estimating the contribution of degradation in air and deposition to the deep sea to the global loss of PCBs. *Atmos. Environ.* 36, 5581–5593, 2002.

WANG, S.L., MULLIGAN, C.N. An evaluation of surfactant foam technology in remediation of contaminated soil. *Chemosphere* 57, 1079e1089, 2004.

WALSH, K., R. H. DUNSTAN & R. N. MURDOCH. Differential bioaccumulation of heavy metals and organopollutants in the soft tissue and shell of the marine gastropod, *Austrocochlea constricta*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 28(1):35–39, 1995.

WILDSMITH, M. D. Benthic macroinvertebrates as indicators of environmental deterioration in a large microtidal estuary. *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, n. 3, p. 525-538, 2011.

WEBER, L. W. D., and Greim, H. 1997. The toxicity of brominated and mixed-halogenated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans: An overview. *J. Toxicol. Environ. Health* 50:195–215.