



UNIVERSIDADE
E D U A R D O
MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA AMBIENTAL

TRABALHO DE LICENCIATURA

**Avaliação da Contaminação do Caranguejo *Portunus pelagicus*
por Metais Pesados no Estuário Espírito Santo na Matola -
Moçambique**



Autora: Leila Alberto Mutumane

Maputo, Junho de 2024



UNIVERSIDADE
E D U A R D O
MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA AMBIENTAL

TRABALHO DE LICENCIATURA

**Avaliação da Contaminação do Caranguejo *Portunus pelagicus*
por Metais Pesados no Estuário Espírito Santo na Matola -
Moçambique**

Autora

Mutumane, Leila Alberto

Supervisor

Prof. Doutor Paulino Vicente Muteto

Maputo, Junho de 2024

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de culminação de curso aos meus pais, Alberto Júlio Mutumane e Sara Frederico Machai, que são os maiores incentivadores para a realização dos meus sonhos. Aos meus irmãos Eugénia Arlindo Magombe, Tina Alberto Mutumane e Nelton Alberto Mutumane.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus pelo dom da vida, saúde, protecção, por me dar forças para chegar ao fim desta jornada e por tudo que ele tem feito em minha vida.

Aos meus pais Alberto Júlio Mutumane e Sara Frederico Machai agradeço de forma especial e de todo o meu coração por todo amor, carinho, acompanhamento e por não ter deixado faltar o essencial durante todo o processo da minha formação. Agradeço igualmente aos meus irmãos Eugenia Magombe, Tina Mutumane e Nelton Mutumane por serem os melhores irmãos, pela amizade, companheirismo e por sempre me apoiarem nas minhas escolhas.

Ao meu supervisor Prof. Doutor Paulino Vicente Muteto pelo acolhimento, orientação, ajuda, disponibilidade, apoio, atenção e ensinamentos durante a execução do trabalho. Ao Mestre Miguel Mussa, e à Lic. Nelda Comé pelo apoio durante a execução do trabalho laboratorial e escrita.

No âmbito académico agradeço a todos os meus colegas do Departamento de Química, de forma especial às minhas amigas Lic. Lucília Panguene, Artilénia Monteiro, Jéssica Siteo, Marlene Novela e Neide Cardoso pelos momentos memoráveis que tivemos durante a nossa formação.

E por fim agradeço a todos que directamente ou indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho.

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Leila Alberto Mutumane declaro por minha honra que o presente trabalho de culminação do curso intitulado Avaliação da Contaminação do Caranguejo *Portunus pelagicus* por Metais Pesados no Estuário Espírito Santo, Matola - Moçambique é o resultado da minha investigação e nunca foi apresentado para obtenção de qualquer grau académico ou na sua essência para quaisquer fins e que foi elaborado com base na bibliografia e nas experiências laboratoriais a que se faz referência ao longo deste relatório.

Maputo, aos 12 de Abril de 2024

A autora

(Leila Alberto Mutumane)

GLOSSÁRIO

- EDXRF – Fluorescência de raios - X com energia dispersiva
- FNI – Fundo Nacional de Investigação
- IC – Intervalo de confiança
- ICP-OES – Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
- LD – Limite de detecção
- LQ – Limite de quantificação
- MCT – Ministério da Ciência e Tecnologia de Moçambique
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- WDXRF – Fluorescência de raios - X com dispersão por comprimento de onda
- XRF – Fluorescência de raios – X

RESUMO

O presente trabalho fez uma avaliação da contaminação do ambiente aquático do Estuário Espírito Santo localizado na província de Maputo em Moçambique. A avaliação foi realizada através da identificação e quantificação dos metais pesados As, Cu, Mn, Pb e Zn por XRF e ICP-OES respectivamente, em amostras do caranguejo *Portunus pelagicus*.

A avaliação considerou a análise de amostras de caranguejo completo e seus tecidos dessecados, nomeadamente a carapaça, músculo e hepatopâncreas. O caranguejo *Portunus pelagicus* é amplamente utilizado como bioindicador de poluição ambiental de águas estuarinas. A contaminação de ecossistemas aquáticos por metais pesados vem sendo objecto de vários estudos devido à sua bioacumulação e biomagnificação e contribui bastante para a degradação dos ecossistemas aquáticos e colocando em risco a saúde do próprio Homem.

Os valores das concentrações dos metais no caranguejo foram comparados com os limites da concentração dos metais no caranguejo estabelecidos pela OMS para aferir o nível de poluição do estuário. Todos os metais apresentaram concentração acima do valor permitido pela OMS: [As] > 1.0 mg/Kg; [Cu] > 30.0 mg/Kg; [Mn] > 5.50 mg/Kg; [Pb] > 2.0 mg/Kg; [Zn] > 30.0 mg/Kg.

Estes resultados (indicativos) evidenciam que o ambiente aquático do Estuário Espírito Santo está poluído e constitui um risco para os ecossistemas aquáticos e para a saúde do homem.

As principais fontes de poluição identificadas nas águas estuarinas estudadas foram as actividades portuárias, a pesca e agrícolas.

Campanhas de consciencialização quer para as indústrias quer para as comunidades locais sobre o uso sustentável dos recursos hídricos aliadas às acções de preservação, conservação e monitoria são imprescindíveis para a manutenção das diferentes formas de vida existentes no neste estuário.

Palavras-chave: Contaminação ambiental, Caranguejo, Estuário Espírito Santo, Metais.

ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS	ii
DECLARAÇÃO DE HONRA	iii
GLOSSÁRIO.....	iv
RESUMO	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Objectivos.....	2
1.1.1. Geral.....	2
1.1.2. Específicos	2
1.2. Justificativa da escolha do tema	2
1.3. Metodologia do trabalho	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Poluição ambiental em ecossistemas aquáticos	4
2.2. Estuários	4
2.3. Metais pesados em ambientes aquáticos	5
2.4. Bioindicadores de poluição ambiental	6
2.5. Caranguejos como bioindicadores	7
2.6. Caranguejo <i>Portunus pelagicus</i>	7
2.7. Distribuição geográfica	8
2.8. Interação do <i>Portunus pelagicus</i> com elementos metálicos	9
2.9. Efeitos dos metais em ambientes aquáticos	9
3. DESCRIÇÃO DA ÁREA EM ESTUDO	12

3.1. Estuário Espírito Santo.....	12
4. MÉTODOS DE ANÁLISE	13
4.1. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) 13	
4.1.1. Princípios do método.....	13
4.1.2. Vantagens e desvantagens.....	14
4.2. Fluorescência de Raios-X (XRF)	15
4.2.1. Princípio do método	15
4.2.2. Vantagens e desvantagens.....	16
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	17
5.1. Materiais.....	17
5.2. Equipamentos	18
5.3. Reagentes	18
5.4. Pontos e Procedimento de amostragem.....	19
5.5. Preparação das amostras para a determinação por ICP-OES	20
5.6. Preparação de amostras para a análise qualitativa por XRF	20
6. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.....	21
6.1. Determinação do tamanho (peso, comprimento e largura)	21
6.2. Identificação dos metais nas amostras de caranguejo por XRF	21
6.3. Determinação de metais por ICP-OES.....	23
7. DISCUSSÃO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.....	26
7.1. Identificação de metais nas amostras de caranguejo por XRF.....	26
7.2. Determinação de metais pesados por ICP-OES	26

8. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	32
8.1. Conclusões	32
8.2. Recomendações	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXOS	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagem do caranguejo <i>Portunus pelagicus</i>	8
Figura 2: (a) Baía de Maputo e (b) Estuário Espírito Santo. Fonte: Nemos África (2017)....	12
Figura 3: Diagrama de um espectrómetro típico de emissão óptica por ICP, adaptado do Skoog et al., 2003.	14
Figura 4. Diagrama esquemático de um EDXRF, adaptado de Santos, 2013.	16
Figura 5. Mapa ilustrativo do Estuário Espírito Santo (Google Earth 22.07.2023).	19
Figura 6. Comparação dos teores de As com o valor máximo estabelecido pela OMS.	27
Figura 7. Comparação dos teores de Cu com o valor estabelecido pela OMS.	28
Figura 8. Comparação dos teores de Mn com o valor estabelecido pela OMS.	29
Figura 9. Comparação dos teores de Pb com o valor estabelecido pela OMS.	30
Figura 10. Comparação dos teores de Zn com o valor estabelecido pela OMS.	31
Figura A 1. Imagem do Espectrómetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado Modelo 9800 da Shimadzu.	40
Figura A 2. Imagem do Espectrómetro de fluorescência de Raios-X ED-7000 da Shimadzu.	40
Figura A 3. Balança Analítica	40
Figura A 4. Espectro de raios-X. Amostra C.1	41
Figura A 5. Espectro de raios-X. Amostra C.2	41
Figura A 6. Espectro de raios-X. Amostra C.3	41
Figura A 7. Espectro de raios-X. Amostra C.4C	42
Figura A 8. Espectro de raios-X. Amostra C.4H	42
Figura A 9. Espectro de raios-X. Amostra C.4M	42
Figura A 10. Curva de calibração Pb.	43
Figura A 11. Curva de calibração Zn.	44
Figura A 12. Curva de calibração Cu.	44
Figura A 13. Curva de calibração Mn.	44
Figura A 14. Curva de calibração As.	45

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos metais.....	10
Tabela 2. Equipamentos utilizados para análises laboratoriais.	18
Tabela 3. Tamanho e peso das amostras de caranguejo.	21
Tabela 4. Composição química das amostras de caranguejo.....	22
Tabela 5. Composição química das amostras dos tecidos dessecados.	23
Tabela 6. Concentrações dos metais em caranguejos completos por ICP-OES.....	24
Tabela 7. Teores dos metais no caranguejo dessecado em 3 diferentes tecidos por ICP-OES.	24
Tabela 8. Limites de detecção e quantificação em mg/Kg do ICP-OES.....	25
Tabela 9. Valores máximos admissíveis para crustáceos estabelecidos pela OMS.	27
Tabela A 1. Equações das rectas de calibração normal.....	46
Tabela A 2. Intensidades das amostras de caranguejos analisadas por ICP-OES.....	46

1. INTRODUÇÃO

Os estuários são de grande valor ecológico para os ecossistemas. No entanto os ambientes estuarinos recebem elevados níveis de contaminantes provenientes de fontes naturais e das actividades antropogénicas. A agricultura e indústria na sua maioria produzem contaminantes como metais que impactam negativamente a qualidade dos estuários e das espécies que neles habitam (Habte *et al.*, 2015).

O consumo elevado de mariscos vem-se tornando uma ameaça à saúde pública devido ao aumento de contaminantes nas massas de águas. Os metais estão em posição de destaque pelo seu alto nível de toxicidade e acumulação em tecidos de animais mesmo em concentrações reduzidas e pela sua capacidade de persistência nos ecossistemas. Apesar de alguns metais serem considerados essenciais para o metabolismo de animais como o Zn e Mn, os intervalos entre os níveis benéficos e tóxicos são muito reduzidos (Olowu *et al.*, 2010; Rajeshkumar & Li, 2018).

Os principais factores que contribuem para o efeito prejudicial dos metais como poluentes ambientais são a sua capacidade não biodegradativa e a sua tendência em acumular-se e permanecer em tecidos animais e em grande parte no ambiente aquático, sendo considerados os sedimentos como principal repositório de metais nos ecossistemas aquáticos (Olowu *et al.*, 2010).

Animais marinhos como caranguejos são considerados bioindicadores de poluição marinha devido à sua alta capacidade de acumular contaminantes como metais nos seus tecidos, e podem ser usados para avaliar e monitorar o nível de contaminação por metais (Olowu *et al.*, 2010; Rajeshkumar & Li, 2018).

Desta forma, o presente estudo tem como principal objectivo avaliar o teor de metais no caranguejo *Portunus pelagicus* como bioindicador de poluição ambiental do Estuário Espírito Santo na Província de Maputo cidade da Matola e aferir o nível de exposição à saúde humana pelo consumo do caranguejo.

Esta pesquisa enquadra-se na área de sustentabilidade ambiental e foi realizada no âmbito do projecto financiado pelo Fundo Nacional de Investigação (FNI) do Ministério da Ciência e Tecnologia de Moçambique (MCT).

1.1. Objectivos

1.1.1. Geral

- ❖ Avaliar o teor de metais no caranguejo *Portunus pelagicus* como bioindicador de poluição ambiental do Estuário Espírito Santo situado na Província de Maputo Cidade da Matola e aferir o nível de exposição à saúde humana pelo consumo do caranguejo

1.1.2. Específicos

- ❖ Fazer a análise elementar das amostras do caranguejo por XRF
- ❖ Determinar as concentrações dos metais As, Cu, Mn, Pb e Zn em caranguejos por ICP-OES
- ❖ Comparar os teores de metais na carapaça, hepatopâncreas e músculo do caranguejo
- ❖ Comparar os níveis de metais em caranguejo com os limites estabelecidos pela legislação vigente em Moçambique e recomendada pela Organização Mundial de Saúde para consumo humano.
- ❖ Avaliar a poluição do Estuário Espírito Santo em Maputo.

1.2. Justificativa da escolha do tema

O desenvolvimento do sector industrial e agrícola nos últimos anos em Moçambique e o crescimento populacional são os principais factores responsáveis pelo aumento dos níveis de contaminação das massas de águas naturais que constituem o habitat para diversas espécies marinhas que, por sua vez, são de grande importância para o equilíbrio dos ecossistemas para além de serem principal fonte de alimentação para o Homem.

A contaminação das massas de águas naturais é de grande preocupação, pois elas são importantes para a vida aquática, pois regulam a reprodução, alimentação, habitat e sobrevivência das espécies, em especial o caranguejo *Portunus pelagicus*. Um dos principais contaminantes presentes nas massas de águas e de elevada preocupação são os metais, pois representam grande risco à saúde humana sendo responsáveis por

inúmeras doenças severas desde cancros, até impactos irreversíveis ao sistema nervoso central que podem conduzir à morte, pelo seu alto nível de toxicidade mesmo em baixas concentrações.

Alguns organismos aquáticos são de grande importância no monitoramento dos níveis de metais em ambientes aquáticos, como é o caso do caranguejo *Portunus pelagicus*. Esta espécie é um bioindicador adequado para avaliação e monitorização de níveis de contaminação por metais pela sua capacidade de absorção de metais essenciais e não essenciais por longos períodos, viver em contacto com os sedimentos e pelo alto poder de adsorção de contaminantes da sua carapaça, permitindo assim conhecer o risco do seu consumo à saúde humana.

1.3. Metodologia do trabalho

A metodologia geral usada para a realização do trabalho foi:

- ❖ Elaboração do protocolo baseado em revisão bibliográfica sobre bioacumulação de metais pesados em invertebrados marinhos e ambientes aquáticos.
- ❖ Preparação do material e reagentes para amostragem, conservação, transporte e análise de amostras.
- ❖ Amostragem e armazenamento das amostras.
- ❖ Análises laboratoriais das amostras.
- ❖ Interpretação e discussão dos resultados.
- ❖ Elaboração das conclusões, recomendações e a redacção do relatório final.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Poluição ambiental em ecossistemas aquáticos

A poluição aquática é definida como a “introdução pelo Homem seja ela directa ou indirecta de substâncias ou energia em ambientes aquáticos e que resulte em efeitos deletérios/prejudiciais, tais como: danos à vida dos recursos aquáticos, perigos à saúde humana, obstrução das actividades aquáticas e deterioração da qualidade dos ambientes aquáticos” (Odeku & Paulos, 2017).

Os ecossistemas aquáticos e a vida aquática têm sido prejudicados pela constante descarga de contaminantes que na sua maioria são de origem antropogénica. Esta poluição causada pelas actividades humanas causa impactos negativos e a deterioração da qualidade da água para diversos fins. Os organismos aquáticos são os mais prejudicados com esta toxicidade e de forma indirecta o homem (Liu, 2022).

As principais fontes antropogénicas de poluentes incluem actividades agrícolas, derrame de óleo, metais pesados, resíduos industriais, plásticos, efluentes domésticos ou industriais, resíduos sólidos, entre outros (Liu, 2022). Os efeitos dos poluentes aquáticos podem resultar em impactos negativos agudos ou crónicos ao longo das zonas costeiras e impactos a longo período ou ao longo dos anos (Odeku & Paulos, 2017).

2.2. Estuários

Os estuários são corpos de água costeira onde a água doce proveniente de rios se mistura com água salgada do oceano. Devido à mistura de água doce e salgada, os estuários são ambientes bastante produtivos e com uma mistura complexa de habitats em constante mudança e de grande biodiversidade marinha que inclui peixes, moluscos, gramíneas subaquáticas e vida marinha microscópica (U.S. EPA, 1989). Inúmeras aves, peixes, moluscos, mamíferos e outros animais dependem de estuários como habitat para reproduzir, alimentar-se e viver. Os estuários são intermediários entre os oceanos e a terra e desempenham também um papel fundamental na migração de aves, pois servem de local de reabastecimento e descanso durante as suas viagens (U.S. EPA, 2006).

As características geográficas dos estuários compõem bacias hidrográficas que incluem lagos, rios, zonas húmidas ou drenagem de corpos de águas superficiais que podem fluir até centenas de quilómetros e arrastar materiais provenientes de fontes naturais ou antropogénicas que eventualmente se depositam nos estuários e podem afectar

directamente a sua saúde. As actividades humanas são a principal fonte de poluição nos estuários e podem ser classificadas em fontes pontuais ou não pontuais. A poluição de fonte pontual é caracterizada pela contaminação de uma fonte definida e possível de identificar como um tubo de lançamento de efluentes. A poluição de fonte não pontual ou difusa não é possível alocar a contaminação à fonte produtora como escoamento de águas pluviais de áreas urbanas. Por ser difícil de identificar e quantificar a poluição de fonte não pontual é difícil de gerir, controlar e regular (U.S. EPA, 2006).

2.3. Metais pesados em ambientes aquáticos

A presença de metais pesados em ecossistemas aquáticos é de grande preocupação devido à sua toxicidade, persistência e carácter acumulativo. Por serem elementos não biodegradáveis e se bioacumularem ao longo da cadeia alimentar, mesmo em níveis baixos de poluição podem causar efeitos adversos em organismos aquáticos, efeitos esses que podem ser classificados como agudos (imediatos) ou crónicos quando são a longo prazo (Du Plessis, 2015).

Os metais têm como principais vias de entrada em ambientes aquáticos os efeitos geológicos, onde se destacam as anomalias geoquímicas, intemperismos das rochas e a erosão dos solos. Algumas actividades antropogénicas contribuem igualmente para a acumulação de metais em ecossistemas aquáticos; fazem parte dessas actividades o descarte de efluentes domésticos e industriais sem prévio tratamento, resíduos oriundos de actividades agrícolas e de mineração (Bordalo *et al.*, 2018).

A bioacumulação pode ser definida como a incorporação e retenção de metais por organismos. Se a incorporação do metal for superior à que o organismo usa em seus processos metabólicos e/ou que o organismo irá excretar pode-se afirmar que ocorre bioacumulação e pode afectar a reprodução, alterar os sistemas hemostáticos e hormonais que permitem que o organismo se comunique e responda ao ambiente. A exposição de metais pode ser por meio da ingestão de metais que é classificada como principal via e pela ingestão de alimentos ou partículas de sedimentos que são transportados através do intestino, sendo a segunda via classificada como a mais importante quando se trata de absorção de metais pesados. À medida que a concentração do metal aumenta nos organismos, ela é transferida para seus predadores e ao longo da cadeia alimentar até que acabe no homem; esse processo é chamado de biomagnificação

ou magnificação trófica, e pode resultar no aparecimento de diversas doenças, síndromes e danificar ecossistemas aquáticos e terrestres (Du Plessis, 2015).

2.4. Bioindicadores de poluição ambiental

Os bioindicadores são organismos usados para o monitoração da saúde ambiental, onde os organismos e associações de organismos são monitorados quanto a mudanças que possam indicar um problema no seu ecossistema, podendo apresentar mudanças fisiológicas, comportamentais ou químicas (Saulovic *et al.*, 2015). Mudanças fisiológicas e comportamentais específicas em bioindicadores são usadas para prever mudanças na saúde ambiental e diferem de organismo para organismo (Bastos *et al.*, 2006).

Os bioindicadores são usados para detectar mudanças em ambiente natural e podem monitorar a presença de poluentes e seus efeitos no ecossistema em que vivem os organismos para além de ajudar a monitorar o progresso da autolimpeza do ambiente. Eles podem ser divididos em 3 partes nomeadamente:

- ❖ Os microindicadores: podem ser usados como indicadores da saúde do ecossistema aquático ou terrestre, encontrados em grandes quantidades; os microrganismos são mais fáceis de amostrar em comparação com outros organismos, alguns irão produzir novas proteínas chamadas proteínas de stress, quando expostos a contaminantes como cádmio e benzeno.
- ❖ Animais indicadores: um aumento ou diminuição na população animal pode indicar danos ao ecossistema causados pela poluição, além de monitorar o tamanho e o número de espécies. Outros mecanismos de indicação animal incluem monitorar a concentração de toxinas em tecidos animais, ou monitorar a taxa de deformidades que surgem na população animal.
- ❖ Plantas Indicadoras: a presença ou ausência de uma planta ou outra vida vegetativa em um ecossistema pode fornecer informações importantes sobre a saúde do meio ambiente; algumas plantas respondem às mudanças ambientais nos corpos hídricos, incluindo mudanças na qualidade do ar e clima. O crescimento excessivo ou desaparecimento destas plantas pode indicar stresses ambientais, como altos níveis de poluentes (Bastos *et al.*, 2006).

2.5. Caranguejos como bioindicadores

Os macros invertebrados podem ser potencialmente utilizados como indicadores da qualidade de habitat aquático, em particular, os caranguejos são especificamente bioindicadores eficazes para identificar factores biológicos. A sua morfologia e dinâmica populacional podem responder também a questões de sustentabilidade ambiental e podem ser indicadores chave de poluição e distúrbios antropogénicos na região betónica (Giblock & Crain, 2013). Eles acumulam níveis altos de metais pesados nos seus tecidos e ainda sobrevivem em ambientes poluídos. Geralmente metais penetram nas suas células por meio de transporte usado para outros fins e são acumulados de forma irreversível. Por ocuparem uma posição de intermediários nas cadeias alimentares, é importante que seja feito o monitoramento das concentrações dos metais pesados a fim de determinar o risco toxicológico que pode afectar tanto os animais marinhos como humanos pela ingestão de espécies contaminadas (Chiarelli & Roccheri, 2014).

2.6. Caranguejo *Portunus pelagicus*

O caranguejo *Portunus pelagicus* pertence à família Portunidae. Apresenta uma carapaça coberta por grânulos irregulares, larga e com espinhos longos, as suas pinças são estriadas e geralmente apresentam-se na cor azul. As fêmeas são de cor pardo/castanho e os machos de cor azul apresentam tenazes maiores em comparação com as fêmeas, apresentam cinco (5) pares de pereiópodes dos quais 3 pares são pereiópodes de locomoção. São nadadores activos, porém durante a inactividade enterram-se no sedimento, com apenas antenas, olhos e abertura das câmaras branquiais descobertas (Ranjan *et al.*, 2017).

A forma do abdómen difere entre os machos e as fêmeas onde os machos são caracterizados por um abdómen estreito e pontiagudo e as fêmeas apresentam um abdómen largo por forma a carregar os ovos durante a reprodução (Karam *et al.*, 2023). A maturidade sexual é atingida com um comprimento de carapaça que varia em torno de 110 mm para as fêmeas e libertam milhares de ovos e o ciclo reprodutivo está dividido em cinco (5) estágios diferentes (Yap *et al.*, 2020).

O caranguejo *Portunus pelagicus* é considerado um bioindicador de poluição ambiental devido à sua alta capacidade de bioacumular elementos metálicos e compostos orgânicos. Por ser uma espécie necrófaga, ou seja que se alimenta de organismos mortos

por outras causas, e por se alimentar de uma variedade de materiais tem a habilidade de metabolizar elementos químicos que estão adsorvidos em partículas de sedimentos (Karam *et al.*, 2023).



Figura 1. Imagem do caranguejo *Portunus pelagicus*.

Classificação Científica

Reino: Animalia

Ordem: Decapoda

Filo: Arthropoda

Família: Portunidae

Subfilo: Crustácea

Género: *Portunus*

Classe: Malacostraca

Espécie: *Portunus pelagicus*

2.7. Distribuição geográfica

A espécie de caranguejo *Portunus pelagicus* distribui-se pelas águas em todo o Oceano Pacífico e Índico. Ocorrem em diferentes habitats como substratos arenosos e lamacentos, algas e ervas marinhas até cerca de 50 m de profundidade em águas costeiras. Os caranguejos adultos são encontrados em zonas mais profundas comparados aos juvenis que são encontrados em águas mais rasas (Ranjan *et al.*, 2017). São classificados como necrófagos por se alimentarem de animais mortos, e possuem um sistema respiratório que obtém o oxigénio da água ou pela humidade do ar através das guelras que agem como pulmões por serem aquáticos e terrestres; as guelras estão

localizadas por baixo da carapaça onde ficam presas perto da base dos pereiópodes e são cercadas por câmaras branquiais em cada lado (Clemente *et al.*, 2018).

2.8. Interação do *Portunus pelagicus* com elementos metálicos

O caranguejo assim como a maioria dos invertebrados aquáticos tem a capacidade de absorver e armazenar metais em seus tecidos provenientes de diversas fontes de origem natural ou antropogénica. A absorção de metais ocorre por meio da água, dos alimentos que consomem e pode sofrer influência das características físico-químicas dos sedimentos estuarinos que acumulam de forma natural grande variedade de metais em altas concentrações (Marsden & Rainbow, 2004). A ingestão e absorção de elementos metálicos pelos crustáceos dependem de vários factores ambientais como temperatura, salinidade, concentração de elementos no ambiente, associação dos elementos com partículas de sedimentos, salinidade da água e presença de agentes quelantes (Marmolejo-Rodriguez *et al.*, 2007). Os crustáceos, por passarem maior parte do tempo do seu tempo em partículas de sedimentos, têm a possibilidade de ingerir esses sedimentos como uma possível fonte de alimento embora não excluam outras fontes e têm tendência a acumular elementos metálicos por meio de ingestão ou adsorção (Marsden & Rainbow, 2004; Firat *et al.*, 2008). O caranguejo *Portunus pelagicus* possui alta capacidade de bioacumulação de metais e os factores que influenciam a absorção (biodisponibilidade) de metais desempenham um papel crucial na determinação do potencial ou da taxa de acumulação (Marsden & Rainbow, 2004).

2.9. Efeitos dos metais em ambientes aquáticos

A toxicidade dos metais tem sido objecto de uma grande quantidade de pesquisas embora os metais pesados sejam elementos naturais encontrados em toda a crosta terrestre, a exposição humana e contaminação ambiental pode levar a diversos problemas em toda a cadeia trófica. A exposição de organismos aquáticos a metais pesados pode causar distúrbios no metabolismo, mutações genéticas e a longa exposição pode até levar à morte visto que a sua tendência é de se bioacumular nos organismos e permanecer por um longo período de tempo; porém, mesmo presentes em pequenas quantidades nos ambientes aquáticos incorporam-se na cadeia alimentar através da biomagnificação e afectam várias actividades metabólicas como a glicólise, provocam lesões em alguns órgãos como o rim, destruição dos glóbulos vermelhos, afectam a

reprodução, entre outros (Du Plessis, 2015). Cada metal possui características próprias e únicas que conferem os seus mecanismos de acção toxicológica específicos e a sua determinação quantitativa e qualitativa permite conhecer as suas formas, a concentração total e compreender a sua toxicidade, disponibilidade, bioacumulação e transporte (Ferreira, 2001). A seguir são descritas as toxicidades dos metais determinados no presente estudo ilustrados na tabela 1 que se segue.

Tabela 1. Caracterização dos metais.

Metal	Sintomas	Mecanismos de acção	Fontes de Poluição
Arsénio (As)	<ul style="list-style-type: none"> - Problemas de pele; - Aumento da salivacção; - Perda de peso; - Problemas neurológicos; - Diminuição da actividade sexual; - Doenças pulmonares e cardiovasculares. 	O arsénio no organismo humano inibe a respiração celular e se acumula nas mitocôndrias causando o comprometimento generalizado das funções do metabolismo das proteínas.	<ul style="list-style-type: none"> - Actividade vulcânica e industrial; - Usinas de energia; - Actividades agrícolas. - Actividades de mineração.
Chumbo (Pb)	<ul style="list-style-type: none"> - Atraso do desenvolvimento neuro comportamental; - Defeitos congénitos; - Psicose, autismo; - Fraqueza muscular; - Danos renais; - Pode danificar gravemente o cérebro, fígado e os órgãos reprodutores masculinos 	As vias respiratórias e gastrintestinais são as principais portas de entrada no organismo humano. Após absorvido pode ser encontrado no sangue, nos tecidos, fígado, rins, pulmões, cérebro, baço, músculos e coração.	<ul style="list-style-type: none"> - Fabrico de balas, baterias, actividades de mineração, queima de combustíveis fósseis, emissões vulcânicas e indústrias petrolíferas.
Cobre (Cu)	<ul style="list-style-type: none"> - A ingestão de sais de cobre pode causar problemas gástricos e renais; - Dores abdominais; - Emese (vómito); - Hipertensão e convulsões; - Pode causar o “Mal de Wilson”; - Danos nos rins e fígado; e - Estresse oxidativo. 	O cobre é transportado do fígado para os órgãos periféricos pela ceruloplasmina, que atua como armazenadora e transportadora para manter a homeostase desse elemento, que é o local de maior concentração desse mineral no organismo	<ul style="list-style-type: none"> - A principal fonte de contaminação de cobre inclui a actividade mineira; - Queima de combustíveis fósseis; - Pesticidas e fungicidas.
Metal	Sintomas	Mecanismos de acção	Fontes de

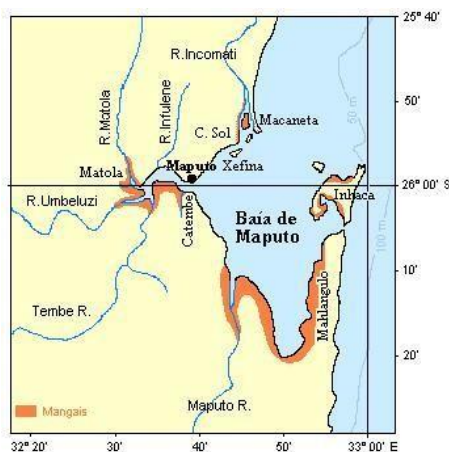
			Poluição
Manganês (Mn)	<ul style="list-style-type: none"> - Distúrbios neurológicos, psicológicos; - Sintomas semelhantes a doença de Parkinson; - Hipotensão e Pneumonia; - Fraqueza e tremores; - Alterações comportamentais. 	Em humanos, o manganês é absorvido no intestino delgado, acabando a maior parte no fígado, de onde se dirige para as diferentes partes do organismo.	<ul style="list-style-type: none"> - Fundição e refinação de metais, fertilizantes, lama do esgoto, deposição de resíduos de animais, deposição atmosférica e incineração de resíduos.
Zinco (Zn)	<ul style="list-style-type: none"> - A ingestão do zinco pode causar a pancreatite, anemia, diarreia, sangramento estomacal, vômitos, náuseas, câimbras, dor epigástrica e fadiga - Em animais pode interferir no seu crescimento. 	<p>O ião zinco é um ião divalente, hidrofílico, não podendo atravessar membranas biológicas por difusão passiva. Existem mecanismos especializados para a sua captação, transporte intracelular e libertação.</p> <p>A absorção envolve dois processos dependentes da concentração. Um processo activo, saturável, ATP dependente e um transporte não saturável.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Actividade mineira; - Combustão de combustíveis fósseis; - Produção de aço, entre outras.

3. DESCRIÇÃO DA ÁREA EM ESTUDO

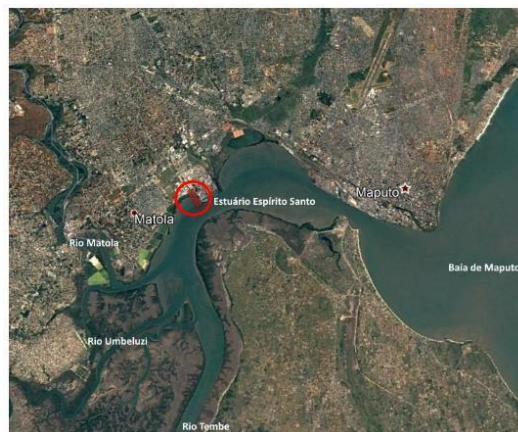
3.1. Estuário Espírito Santo

O Estuário Espírito Santo, localizado na província de Maputo é uma baixa fluvial onde desaguam três (3) rios: Tembe, Umbelúzi e Matola. Com cerca de 800 metros de largura, o Estuário é preenchido por mangais onde se distingue um vale que é o leito do rio Tembe. O percurso do rio Tembe atravessa o distrito de Matutuine e o rio Matola tem cerca de 60 km de extensão, flui do norte a sul da província de Maputo. O rio Umbeluzi nasce na fronteira ocidental de Essatuini e flui de oeste para leste e atravessa a província de Maputo, desaguando assim no Estuário Espírito Santo. A profundidade máxima do Estuário é até 10 m a 20 m, apesar apresentar um perfil de profundidade irregular, podendo em alguns pontos do mesmo apresentar profundidades maiores que 20 metros. As marés do Estuário apresentam amplitudes que variam de 0,45 m a 3,69 m no porto de Maputo. Por outro lado, os escoamentos de marés possuem velocidades máximas na ordem de 1,0 a 1,2 m/s no leito principal do Estuário durante os períodos de marés vivas (Bene, 1999).

A água do Estuário é bem misturada e na estação chuvosa os níveis de salinidade variam de 26 a 30 ppm, e na estação seca variam de 10 a 27 ppm. A água apresenta grande quantidade de sedimentos em suspensão, tornando-a assim muito turva na época seca e mais clara na época chuvosa e maré cheia (Bene, 1999).



(a) Baía de Maputo



(b) Estuário Espírito Santo (Google22.07.2023).

Figura 2: (a) Baía de Maputo e (b) Estuário Espírito Santo. Fonte: Nemus África (2017).

4. MÉTODOS DE ANÁLISE

4.1. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES)

4.1.1. Princípios do método

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado é um dos métodos analíticos mais utilizados para determinação de metais pesados em várias matrizes de diferentes amostras e em determinações multielementares. O ICP-OES baseia-se na medição da emissão da radiação electromagnética das regiões visível e ultravioleta do espectro electromagnético por átomos excitados neutros ou ionizados (Hou & Jones, 2000).

As amostras líquidas são injectadas directamente em um plasma de árgon com uma variedade de nebulizadores ou técnicas de introdução de amostras. As amostras sólidas necessitam de uma digestão ácida ou extracção para que os analitos estejam presentes em solução que é convertida em aerossol e direccionada para o canal central do plasma que sustenta uma temperatura de aproximadamente 10.000 K para que o aerossol seja rapidamente vaporizado. Os elementos são libertados como átomos livres no estado gasoso e passam para o estado fundamental através da emissão de fotões. A concentração da amostra é directamente proporcional ao número total de fotões. É possível identificar os elementos que se originaram através do comprimento de onda dos fotões em configuração axial ou radial (Hou & Jones, 2000). Para resultados precisos, a análise directa de ICP-OES deve ser conduzida apenas em matrizes aquosas limpas (Santos, 2013).

A figura 3 seguinte mostra o diagrama esquemático de um espectrómetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

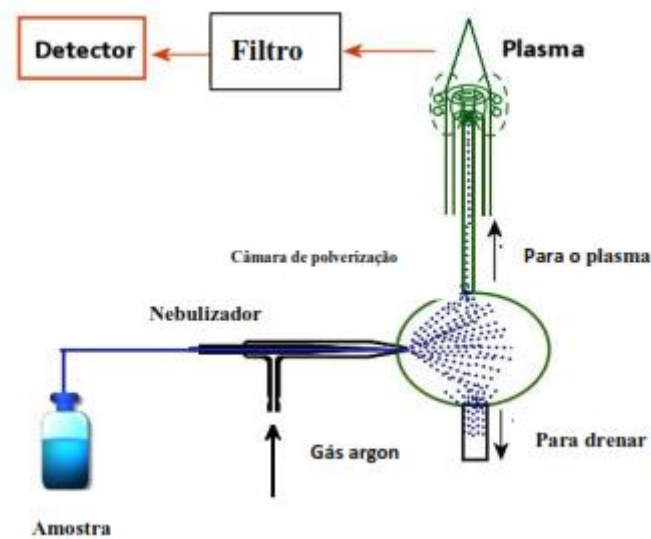


Figura 3: Diagrama de um espectrómetro típico de emissão óptica por ICP, adaptado do Skoog, et al., 2003.

4.1.2. Vantagens e desvantagens

O ICP-OES apresenta muitas vantagens analíticas em comparação com outras fontes de excitação devido à sua capacidade de vaporização, ionização, excitação e atomização eficientes e reprodutíveis para elementos de diversas matrizes de amostras. Estas vantagens são conferidas principalmente pela alta temperatura em torno dos 6000-10000 K que é muito superior à temperatura máxima de chamas ou fornos (3300 K) para além de permitir que seja capaz de excitar elementos refractários e torná-los menos propensos a interferências de matrizes (Hou & Jones, 2000). Outras vantagens do ICP derivam do facto de este provocar menos ruído, apresentar alta estabilidade, baixa intensidade de emissão de fundo e apresenta imunidade a muitos tipos de interferências (Skoog *et al.*, 2006). O ICP é amplamente utilizado na determinação de elementos traços em amostras ambientais, como água potável, águas residuais, produto de petróleo, em alimentos, amostras biológicas e geológicas e no controle da qualidade industrial (Skoog *et al.*, 2003).

As desvantagens incluem o custo elevado de aquisição do mesmo e os usuários necessitam de treinamento dedicado para sua operação.

4.2. Fluorescência de Raios-X (XRF)

4.2.1. Princípio do método

A Espectrometria por fluorescência de raios-X é um método analítico que determina qualitativamente e quantitativamente a composição química de materiais em diversos estados como líquido, sólido, em pó ou filtrado, entre outros. É um método rápido e preciso que se baseia na medição da intensidade dos raios-X emitidos por elementos presentes em uma amostra e que emitem energias equivalentes a cores que são características destes elementos. Cada cor representa uma energia diferente e com base nessas medições é possível determinar os elementos presentes na amostra e essa medição é chamada de análise qualitativa. A análise quantitativa dos elementos presentes na amostra é baseada nas medições das intensidades das energias emitidas (cores) para determinar a quantidade de cada elemento presente na amostra. A espectrometria de fluorescência de raios-X é dividida em dois grupos principais, nomeadamente: Fluorescência de Raios-X com Dispersão por Comprimento de Onda (WDXRF) e Fluorescência de Raios-X com Energia Dispersiva (EDXRF) a diferença dos dois grupos está no sistema de detecção (Brouwer, 2010).

A fluorescência de raios-X com dispersão por comprimento de onda (WDXRF) é caracterizada por fazer uso de cristal de análise para dispersar a energia e toda a radiação proveniente da amostra. A energia incide neste cristal que difracta diferentes energias em diferentes direcções, ao passo que a fluorescência de raios-X com energia dispersiva (EDXRF) é baseada na medição de diferentes energias de radiação emitida directamente pela amostra. A intensidade da energia emitida pelos componentes da amostra está relacionada com as concentrações de cada elemento presente na amostra (Brouwer, 2010).

Para o presente estudo foi utilizado o método de Fluorescência de Raios-X com Energia Dispersiva (EDXRF). A seguir apresenta-se na figura 4 o diagrama esquemático do método EDXRF.

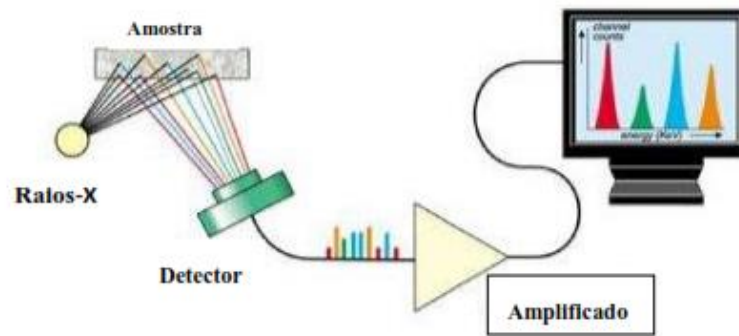


Figura 4. Diagrama esquemático de um EDXRF, adaptado de Santos, 2013.

4.2.2. Vantagens e desvantagens

A análise de Fluorescência de Raios-X tem aplicação em diversas áreas de escala industrial como indústrias de metal, cimento, polímeros, alimentos, petróleo, mineração e é amplamente utilizada na ciência e na engenharia para determinação da composição elementar de vários produtos naturais. A técnica pode ser usada também para análises ambientais de água e resíduos sólidos, é bastante útil para pesquisa na indústria farmacêutica, é um método rápido, preciso, não destrutivo e apresenta boa sensibilidade (Brouwer, 2010).

O método tem como principais desvantagens a longa duração laboratorial para preparação da amostra, bem como o custo para aquisição, montagem e operação do equipamento (IAEA, 2005).

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiais

Os materiais utilizados para o armazenamento e tratamento das amostras foram previamente lavados em água e detergente, e posteriormente imersos em balde com ácido nítrico (HNO₃) a 10 % durante 24 horas. De seguida foram imersos em água destilada de novo por 24 horas e foram secos em uma estufa a 105 °C por 1 hora. A seguir são listados os materiais utilizados durante a amostragem, transporte, conservação e análise das amostras.

- ❖ Almofariz e pistilo;
- ❖ Aspirador para pipeta;
- ❖ Balão volumétrico 25 mL (NORMAX);
- ❖ Cadinhos de teflon;
- ❖ Coleman;
- ❖ Copo de Becker 150 mL;
- ❖ Esguicho;
- ❖ Erlenmeyer 250 mL (NORMAX);
- ❖ Espátula;
- ❖ Frascos de vidro e plásticos;
- ❖ Funil de vidro;
- ❖ Marcador;
- ❖ Papel de filtro 77 mm e 110 mm;
- ❖ Pipetas volumétricas de 0,5 mL, 1 mL e 2 mL;
- ❖ Porta-amostras;
- ❖ Proveta graduada 10 mL e 50 mL;
- ❖ Suporte universal e garra;
- ❖ Tesoura;
- ❖ Rótulos;
- ❖ Vareta de vidro;
- ❖ Vidro de relógio.

5.2. Equipamentos

Os equipamentos utilizados para as análises estão listados na tabela 2 que se segue.

Tabela 2. Equipamentos utilizados para análises laboratoriais.

Equipamento	Marca	Modelo	Precisão
Balança analítica	SHIMADZU Corporation	AUW220D	0,0001g
Balança analógica	-	-	0.001 g
Estufa	BIOBASE	BOV-T30C	
Manta eléctrica	SHIMADZU Corporation	-	-
Espectrómetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado	SHIMADZU	9800	
Paquímetro	-	-	-
Placa de aquecimento	-	-	
XRF	SHIMADZU	EDX-7000	-

Foram também usados alguns equipamentos de protecção individual como:

- ❖ Luvas de látex;
- ❖ Máscara facial e
- ❖ Óculos de protecção.

5.3. Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes para realização das análises químicas: Ácido nítrico (HNO₃), com 65-70 % (w/w) de grau de pureza (Glassworld); Padrão multi-elementos de 100 mg/L.

5.4. Pontos e Procedimento de amostragem

Os procedimentos de colecta, transporte, conservação e preparação de amostras são a seguir descritos. A figura 5 ilustra o ponto de amostragem e os rios que desaguam no Estuário fixados através do GPS. Todos os procedimentos relativos a análises químicas de metais (As, Cu, Mn, Pb, Zn) em caranguejos *Portunus pelagicus* seguiram a metodologia descrita no *Standard Methods For Examination of Water and Wastewater* (APHA 2017).

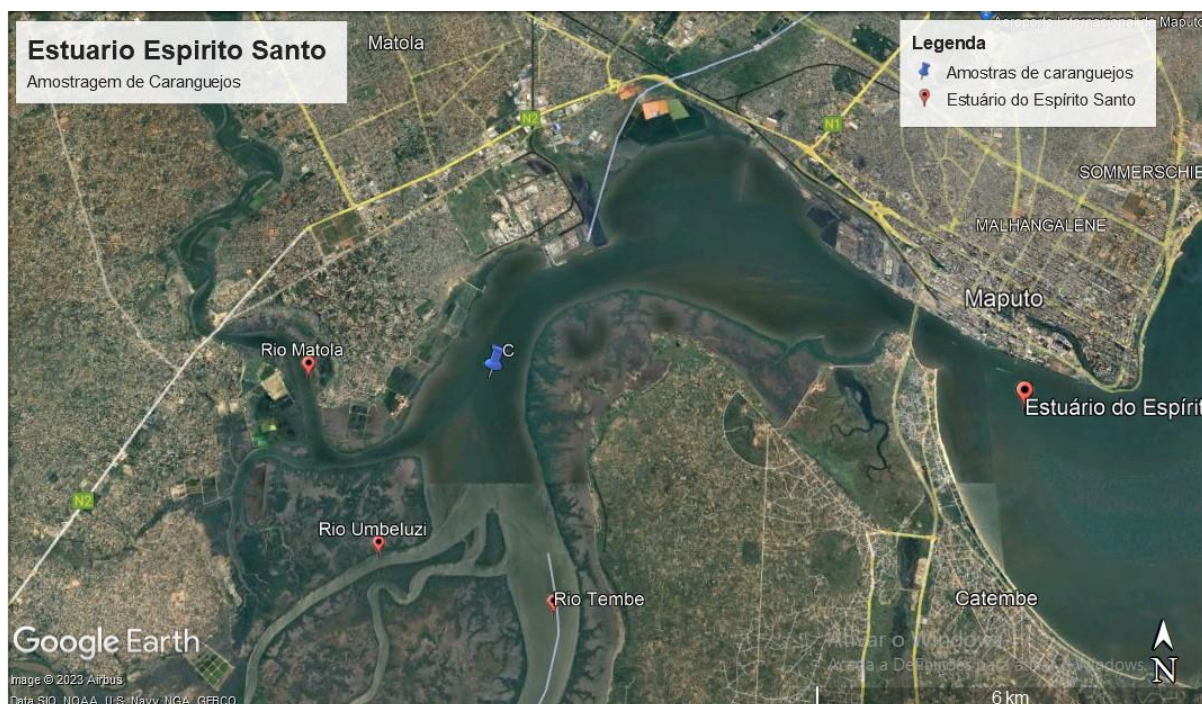


Figura 5. Mapa ilustrativo do Estuário Espírito Santo (Google Earth 22.07.2023).

As amostras do caranguejo *Portunus pelagicus* de ambos os géneros foram colhidas vivas por meio de armadilhas dos pescadores na época chuvosa. Foi possível distinguir os géneros pois as fêmeas apresentam um abdómen largo por forma a carregar os ovos durante a reprodução e os machos um abdómen mais estreito e pontiagudo. As amostras foram lavadas com água para remoção de areia, lodo e outros resíduos presentes. De seguida foram refrigeradas e transportadas para o Laboratório do Departamento de Química, Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane onde foram mantidas refrigeradas a uma temperatura de 4 °C por forma a morrerem de hipotermia.

A seguir os caranguejos foram descongelados à temperatura ambiente, pesados usando uma balança semi-analítica de precisão 0.001 g. Com o auxílio de um paquímetro foram também medidos o comprimento e a largura dos caranguejos.

5.5. Preparação das amostras para a determinação por ICP-OES

Depois de descongeladas à temperatura ambiente e pesadas, parte das amostras de caranguejo foram dessecadas por forma a extrair os tecidos do corpo nomeadamente: carapaça, músculo e hepatopâncreas e foram rotuladas e armazenadas. A outra parte das amostras de caranguejos por apresentarem um tamanho pequeno foram trituradas e homogeneizadas sem separação dos tecidos, ou seja, foram analisadas como um todo.

Posteriormente, foram pesadas cerca de 0.5 g das amostras preparadas e submetidas a pré-digestão em cadinhos de teflon à temperatura ambiente durante uma noite com 5 mL de HNO₃ concentrado (65-70% w/w). Passadas 24 h as amostras foram submetidas a digestão usando uma placa de aquecimento com variação de temperatura de 100 °C a 160 °C onde se evaporou a solução até quase à secura restando cerca de 0,2 mL da solução, por último filtrou-se a solução com auxílio de papel de filtro para um balão volumétrico de 25 mL e perpez-se o volume com água bidestilada. As amostras foram conservadas e armazenadas à temperatura de 4 °C até à leitura no ICP-OES. Os procedimentos para análise das amostras foram descritos por Merfa (2010).

5.6. Preparação de amostras para a análise qualitativa por XRF

As amostras de caranguejos foram secas, trituradas e crivadas, de seguida foram colocadas em porta-amostras apropriado, devidamente rotuladas e foram levadas ao equipamento para a análise da composição química dos caranguejos.

6. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados das análises realizadas nas amostras de caranguejo *Portunus pelagicus* colectadas no Estuário Espírito Santo. Foram analisadas 3 diferentes amostras de caranguejos e 3 amostras de tecidos dessecados do mesmo indivíduo (caranguejo). Os dados da determinação dos metais pelo ICP-OES são valores indicativos, uma vez que não foi utilizado um material de referência para a validação do método. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados pelas equações 1 e 2 respectivamente (Miller & Miller, 2005).

$$LD = \frac{3 s_{yx}}{b} \quad \text{equação 1} \quad LQ = \frac{10 s_{yx}}{b} \quad \text{equação 2}$$

onde $s_{y/x}$ - desvio padrão do y- residual determinado por Excel no cálculo de regressão linear e b - declive na recta de regressão linear ou sensibilidade.

6.1. Determinação do tamanho (peso, comprimento e largura)

Os caranguejos do Estuário Espírito Santo apresentam um peso que varia de 124,25 g a 410,60 g e um tamanho que varia de 91,33 x 60,00 mm a 122,01 x 84,00 mm de uma amostra total de 4 indivíduos dos quais 3 machos e 1 fêmea conforme apresentado na tabela 3.

Tabela 3. Tamanho e peso das amostras de caranguejo.

Amostras	Comprimento x Largura (mm)	Peso (g)
C1 Fêmea	92,33 x 65,70	150,21
C2 Macho	91,33 x 60,00	124,25
C3 Macho	94,67 x 66,31	190,10
C4 Macho	122,01 x 84,00	410,60

6.2. Identificação dos metais nas amostras de caranguejo por XRF

A análise qualitativa pelo espectrómetro de Fluorescência de Raios-X de amostras de caranguejo completo (C1, C2 e C3) no Estuário Espírito Santo permitiu a identificação

de 31 elementos químicos conforme ilustra a tabela 4, onde "√" significa que o metal foi identificado na amostra e "X" não foi identificado.

Tabela 4. Composição química das amostras de caranguejo.

Metais	Amostras			Metais	Amostras		
	C1	C2	C3		C1	C2	C3
Ag	√	X	√	Ar	√	√	√
As	√	√	√	Sc	√	√	X
Cu	√	√	√	Rb	√	√	√
Fe	√	√	√	Yb	√	X	X
Mn	√	√	√	I	√	√	√
Pb	√	√	√	Ce	√	√	√
Sn	√	X	X	Nd	√	X	√
Zn	√	√	√	Cl	√	√	√
Ca	√	√	√	Eu	√	X	X
P	√	√	√	Tb	X	√	X
S	√	√	√	U	X	√	X
Rh	√	√	√	Cs	X	√	√
Ba	√	√	√	La	X	√	√
Br	√	√	√	Pr	X	√	X
Sr	√	√	√	K	√	√	√
Ni	√	√	√				

A tabela 5 que se segue apresenta a composição química dos metais obtida por XRF para as amostras de caranguejo dessecado. Os resultados correspondem à análise de três (3) diferentes partes do corpo do mesmo caranguejo (C4), nomeadamente: carapaça (C4C), músculo (C4M) e o hepatopâncreas (C4H). Na análise feita foram identificados 33 elementos químicos em todas as amostras.

Tabela 5. Composição química das amostras dos tecidos dessecados.

Metais	Amostras			Metais	Amostras		
	C4C	C4M	C4H		C4C	C4M	C4H
Ag	X	X	√	Rb	√	√	√
As	X	√	√	Yb	√	X	X
Cu	√	√	√	I	√	√	√
Fe	√	√	√	Ce	√	√	√
Mn	√	√	√	Nd	X	√	X
Pb	√	√	√	Cl	√	√	√
Zn	√	√	√	U	√	X	√
Ca	√	√	√	Cs	√	√	√
P	√	√	√	La	√	√	X
S	√	√	√	Pr	√	X	√
Rh	√	√	√	K	√	√	√
Ba	√	√	√	Cr	√	X	X
Br	√	√	√	Lu	√	X	X
Sr	√	√	√	Ti	√	√	X
Ni	√	X	X	Se	X	√	√
Ar	√	√	√	Os	X	X	√
Sc	√	X	X				

6.3. Determinação de metais por ICP-OES

Para a determinação das concentrações dos metais foi utilizado o método de regressão linear para o cálculo do intervalo de confiança X_A pela equação 4.

$$IC = X_A \pm t_{(n-2)} S_{x_A} \quad (\text{Equação 4})$$

onde: X_A – concentração do metal; S_{x_A} – desvio padrão de X_A (Miller & Miller, 2005).

Para o cálculo de desvio padrão (\bar{X}_A) usou-se a equação (5):

$$S_{x_A} = S_{y/x} / b \left[\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + (Y_A - \bar{Y})^2 / b^2 \sum_i (X_i - \bar{X})^2 \right]^{1/2} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

$s_{y/x}$ - desvio padrão do y- residual;

b - Declive na recta de regressão linear ou sensibilidade;

m - Número de repetição das amostras;

n - Número de amostras;

Y_A - Intensidades.

A tabela 6 que se segue apresenta as concentrações em mg/kg dos metais As, Cu, Mn, Pb e Zn determinados nas amostras de caranguejos *Portunus pelagicus* completo (C1, C2 e C3). no Estuário Espírito Santo.

Tabela 6. Concentrações dos metais em caranguejos completos por ICP-OES.

Metal	IC(mg/Kg)		
	C1	C2	C3
As	166.50 ± 0.74	96.26± 0.71	67.86± 0.71
Cu	70.24 ± 0.61	67.76± 0.61	38.97± 0.61
Mn	56.48± 0.54	54.67± 0.53	50.35± 0.53
Pb	75.15± 0.34	58.41 ± 0.30	40.72 ± 0.30
Zn	166.01± 0.71	41.59 ±0.59	37.22 ±0.59

Igualmente na tabela 7 são apresentados para os mesmos metais, os resultados das amostras do caranguejo dessecado em 3 diferentes partes do corpo, nomeadamente: Carapaça, Músculo e Hepatopâncreas.

Tabela 7. Teores dos metais no caranguejo dessecado em 3 diferentes tecidos por ICP-OES.

Metal	IC(mg/Kg)		
	C4C	C4M	C4H
As	168.29± 0.76	48.04 ± 0.74	100 ± 0.71
Cu	39.07 ± 0.63	18.63 ± 0.66	148.08 ± 0.61
Mn	66.16 ± 0.53	ND	5.29 ± 0.58
Pb	ND	18.63 ± 0.37	52.40 ± 0.34
Zn	31.08 ± 0.59	30.39 ± 0.60	26.92 ± 0.61

onde: **ND** – não determinado

A tabela 8 que se segue apresenta os dados dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método ICP-OES obtidos na determinação dos metais nas amostras de caranguejo.

Tabela 8. Limites de detecção e quantificação em mg/Kg do ICP-OES.

<i>Metais</i>	<i>LD</i>	<i>LQ</i>
As	0.612	2.039
Cu	0.516	1.723
Mn	0.450	1.501
Pb	0.210	0.701
Zn	0.355	1.186

7. DISCUSSÃO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

7.1. Identificação de metais nas amostras de caranguejo por XRF

Foram detectados 36 elementos químicos nas amostras do Estuário Espírito Santo, dos quais se destacam os metais de interesse para o presente trabalho, nomeadamente: As, Cu, Mn, Pb e Zn.

O elevado número de elementos químicos identificados nas amostras do Estuário Espírito Santo é um indicador para avaliação da qualidade do estuário. As fontes de contaminação são oriundas de fontes naturais e de actividades antropogénicas como portuárias, agrícolas, industriais, pesqueiras que se realizam ao longo do Estuário e dos rios que alimentam o estuário.

A contaminação por metais é prejudicial aos organismos aquáticos uma vez que incorporam os contaminantes pelo processo de bioacumulação podendo ser transferidos ao longo da cadeia trófica até que acabe no Homem pelo processo de biomagnificação resultando em diversas síndromes e doenças como cancro, afectar a reprodução, provocar lesões em órgãos como o rim, distúrbios neurológicos ou até levar à morte. Nos organismos aquáticos que habitam e se reproduzem no estuário, a bioacumulação de metais pode causar redução da fauna aquática ou até a extinção dos organismos, pode causar anomalias comportamentais, 'stress' aquático, problemas de reprodução de espécies ou inibição do crescimento (Du Plessis, 2015).

7.2. Determinação de metais pesados por ICP-OES

De acordo com os resultados da presente pesquisa não foi possível relacionar a concentração dos metais em ordem crescente pois esta variou entre as amostras. Entre as amostras de tecidos dessecados foi possível verificar maior concentração de metais na Carapaça, para os metais As, Mn e Zn. O facto de a carapaça apresentar maior concentração pode ser explicado pelo facto do caranguejo *Portunus pelagicus* ocorrer em diferentes habitats como substratos arenosos e lamacentos sendo a carapaça a parte do caranguejo com maior contacto com os sedimentos estuarinos (Ranjan *et al.*, 2017).

As concentrações de metais determinados nos caranguejos do Estuário Espírito Santo foram comparadas com os valores máximos admissíveis estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) apresentados na tabela 9 seguinte.

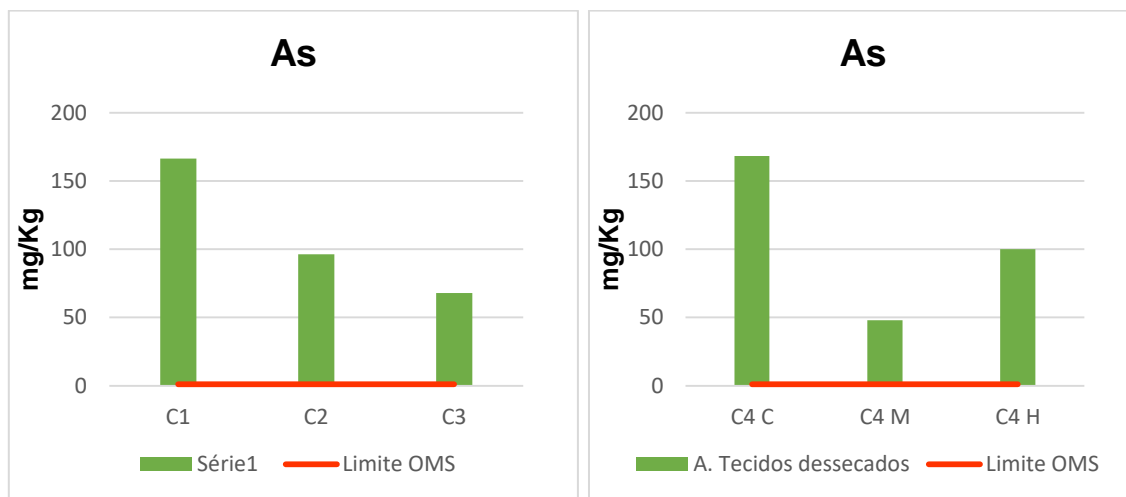
Tabela 9. Valores máximos admissíveis para crustáceos estabelecidos pela OMS.

Metais (mg/Kg)					
Metal	As	Cu	Mn	Pb	Zn
OMS	1.0	30.0	5.50	2.0	30.0

Os gráficos que se seguem apresentam as comparações dos valores experimentais com os limites máximos estabelecidos pela OMS.

Concentrações de Arsénio (As)

As amostras de caranguejo do Estuário Espírito Santo apresentam concentrações de As muito acima do valor estabelecido pela OMS (1 mg/kg) para cada uma das 3 amostras de caranguejo completo (C1, C2 e C3) e também para os tecidos dessecados carapaça, músculo e hepatopâncreas (C4C, C4M, C4H) respectivamente, conforme ilustram os gráficos da figura 6.



a) Caranguejo Completo

b) Caranguejo com tecidos dessecados

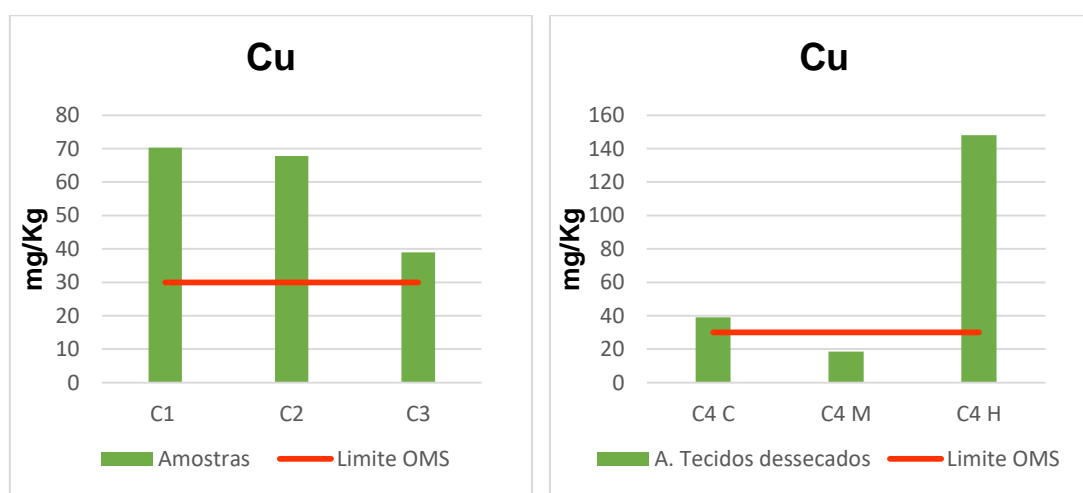
Figura 6. Comparação dos teores de As com o valor máximo estabelecido pela OMS.

O arsénio nas suas formas inorgânicas arseniato e arsenito é letal e tóxico porque causa diversos tipos de cancro ao Homem. A toxicidade do As pode ser aguda ou crónica. A

toxicidade crónica no Homem manifesta-se na pele por meio de lesões, cancro internos, problemas neurológicos, doenças pulmonares e cardiovasculares, mutações genéticas e morte (Jaishankar *et al.*, 2014).

Concentrações de Cobre (Cu)

As amostras de caranguejo do Estuário Espírito Santo apresentam concentrações de **Cu** acima do valor estabelecido pela OMS (30 mg/kg) para cada uma das 3 amostras de caranguejo completo (C1, C2 e C3) e também para os tecidos dessecados carapaça, músculo e hepatopâncreas (C4C, C4M, C4H) respectivamente, conforme ilustram os gráficos da figura 7.



a) Caranguejo Completo

b) Caranguejo com tecidos dessecados

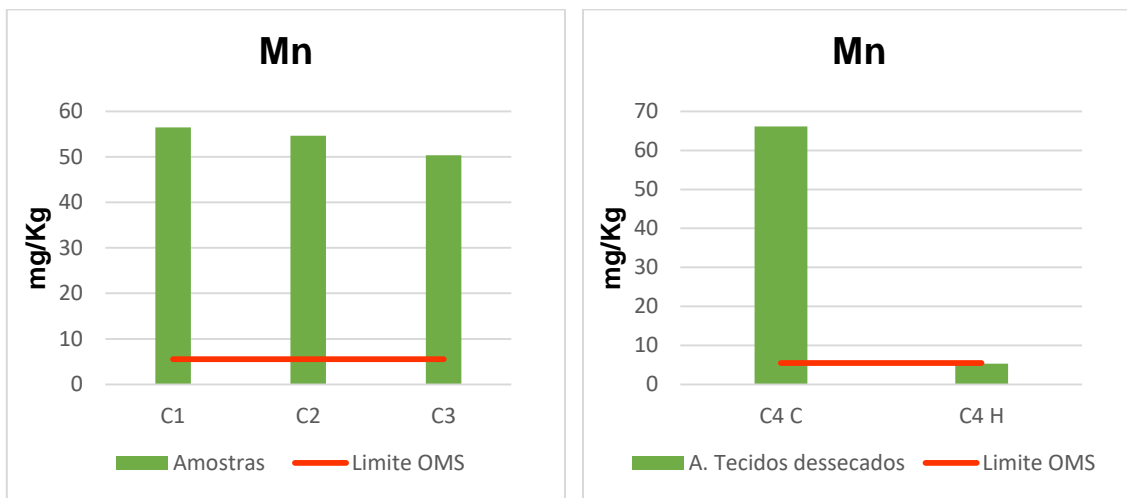
Figura 7. Comparação dos teores de Cu com o valor estabelecido pela OMS.

O cobre é um metal necessário para as enzimas e igualmente para síntese da hemoglobina no sangue. A ingestão excessiva de cobre pode causar doenças genéticas como o “Mal de Wilson” que ocorre devido ao acúmulo de cobre no cérebro e nos olhos, insuficiência renal, danos no fígado e até a morte (Yousif *et al.*, 2021).

Concentrações de Manganês (Mn)

As amostras de caranguejo do Estuário Espírito Santo apresentam concentrações de **Mn** acima do valor estabelecido pela OMS (5.5 mg/kg) para cada uma das 3 amostras de caranguejo completo (C1, C2 e C3) e também para o tecido dessecado carapaça (C4C). A amostra de tecido dessecado hepatopâncreas (C4 H) apresenta concentração de **Mn**

abaixo do valor estabelecido pela OMS respectivamente, conforme ilustram os gráficos da figura 8.



a) Caranguejo Completo

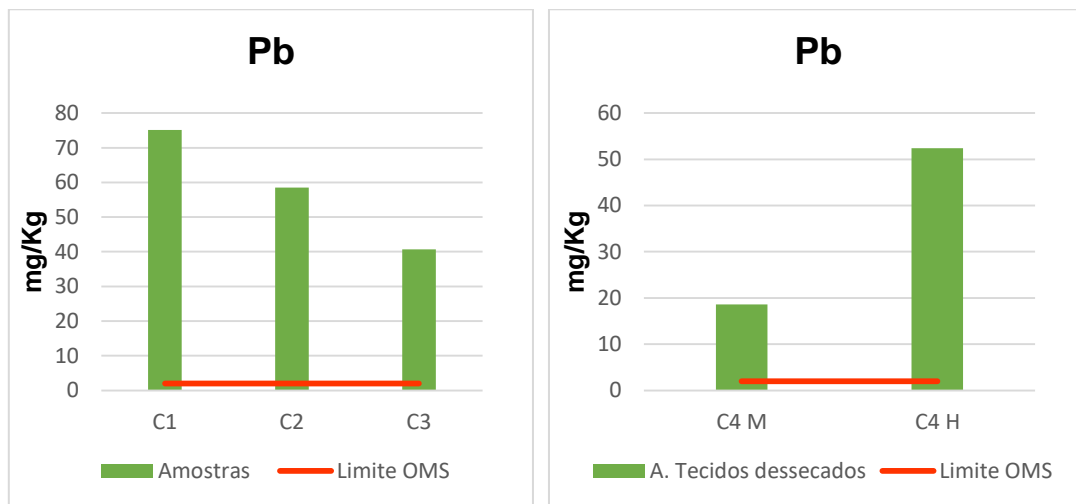
b) Caranguejo com tecidos dessecados

Figura 8. Comparação dos teores de Mn com o valor estabelecido pela OMS.

O manganês é um elemento essencial as células vivas quando presente em pequenas concentrações. Em altas concentrações nos ecossistemas aquáticos causa estresse aos organismos que vivem no fundo dos estuários (Olayinka-Olagunju *et al.*, 2021). No Homem a exposição ao manganês pode causar hipotensão, efeitos adversos ao sistema nervoso, fraqueza, tremores, doença de Parkinson, desordenação do movimento e problemas de sexualidade (Briffa *et al.*, 2020).

Concentrações de Chumbo (Pb)

As amostras de caranguejo do Estuário Espírito Santo apresentam concentrações de **Pb** muito acima do valor estabelecido pela OMS (2 mg/kg) para cada uma das 3 amostras de caranguejo completo (C1, C2 e C3) e também para os tecidos dessecados carapaça, músculo e hepatopâncreas (C4C, C4M, C4H) respectivamente, conforme ilustram os gráficos da figura 9.



a) Caranguejo Completo

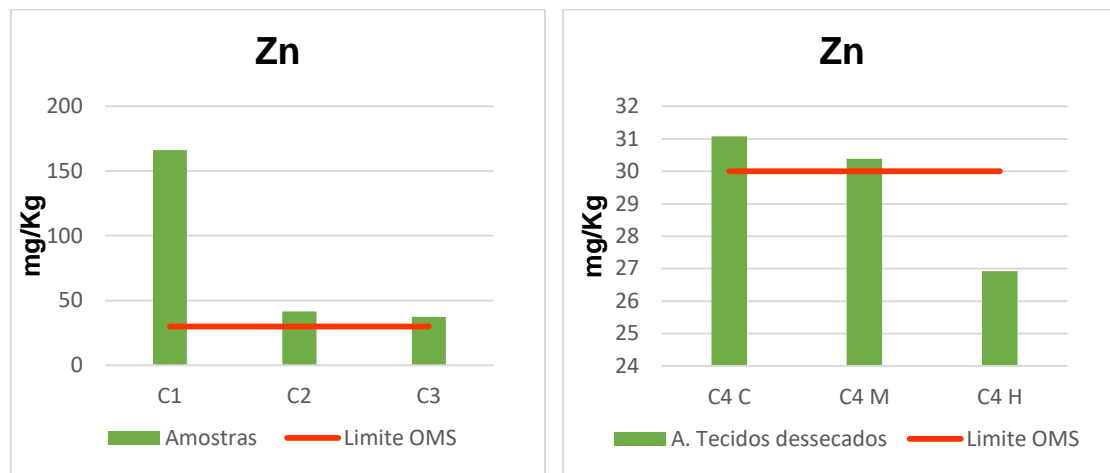
b) Caranguejo com tecidos dessecados

Figura 9. Comparação dos teores de Pb com o valor estabelecido pela OMS.

O Pb é um metal altamente tóxico que pode bioacumular-se nos tecidos biológicos de forma aguda ou crónica e causar diversos males. A exposição aguda ao chumbo causa efeitos como fadiga, hipertensão, dor abdominal e a exposição prolongada ao chumbo resulta em atraso mental, psicose, autismo, dislexia, perda de peso, danos cerebrais e renais, defeitos congénitos e até causar a morte (Jaishankar *et al.*, 2014).

Concentrações de Zinco (Zn)

As amostras de caranguejo do Estuário Espírito Santo apresentam concentrações de **Zn** acima do valor estabelecido pela OMS (30 mg/kg) para cada uma das 3 amostras de caranguejo completo (C1, C2 e C3) e também para os tecidos dessecados carapaça, músculo (C4C, C4M). A amostra de tecido dessecado hepatopâncreas (C4 H) apresenta concentração de **Zn** abaixo do valor estabelecido pela OMS respectivamente, conforme ilustram os gráficos da figura 10.



a) Caranguejo Completo

b) Caranguejo com tecidos dessecados

Figura 10. Comparação dos teores de Zn com o valor estabelecido pela OMS.

O zinco é um micronutriente essencial para as células vivas e importante para muitas enzimas envolvidas no metabolismo de RNA e DNA, porém em altas quantidades pode tornar-se tóxico e cancerígeno, interferir no crescimento dos organismos aquáticos, causar efeitos crónicos no Homem como a pancreatite e anemia (Caulfield & Black, 2004); (Yousif *et al.*, 2021).

8. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

8.1. Conclusões

A avaliação do ambiente aquático do Estuário Espírito Santo na Matola, através da determinação de metais por ICP-OES na análise de amostras do caranguejo *Portunus pelagicus*, considerado como bioindicador de poluição de águas estuarinas foi alcançada.

Os 36 elementos químicos quer os de origem natural ou antropogénica detectados e identificados por XRF nas amostras de caranguejo, incluindo nos seus tecidos dessecados, carapaça, músculo e hepatopâncreas permitiram, concluir que:

A poluição no Estuário não provém apenas de fontes naturais, mas também de actividades antropogénicas que são realizadas nas redondezas do Estuário como agricultura, pesca, descargas dos esgotos domésticos e industriais, manuseio de cargas portuárias, entre outras actividades que impactam negativamente na qualidade do Estuário, e podem reduzir a biodiversidade aquática, causar a extinção de espécies ou mudanças da paisagem natural.

Os resultados da determinação das concentrações (indicativas) dos metais As, Cu, Mn, Pb e Zn em amostras de caranguejos por ICP-OES, permitiram concluir que:

O estuário do Espírito Santo está poluído. Os valores das concentrações de As, Cu, Mn, Pb e Zn obtidos nas águas estuarinas em estudo ultrapassam os limites estabelecidos pela OMS, quer no caranguejo completo quer nos seus tecidos dessecados.

Esta poluição constitui um risco para os organismos aquáticos, a perda da biodiversidade e também colocam em perigo a saúde humana através das contaminações em cadeia trófica. Para o homem são conhecidos os efeitos destes metais nos sistemas respiratório, cardiovascular, reprodutivo, cancro, entre outros. Nas plantas e organismos em ambientes aquáticos estas contaminações podem provocar falta de pescado devido à sua influência negativa na reprodução das espécies, mutações até a extinção de espécies.

A biodiversidade aquática dos estuários tem sido a grande prejudicada pela acção humana que impacta negativamente na deterioração da qualidade da água como habitat

e para diversos fins. Acções de monitoria que visam a conservação, preservação e uso sustentável são imprescindíveis, para as plantas e organismos aquáticos e para as gerações futuras.

8.2. Recomendações

Tendo em conta a complexidade do presente estudo e com base nos resultados apresentados, são apresentadas algumas recomendações e orientações para possíveis trabalhos futuros com vista à protecção dos ambientes aquáticos estuários:

- ❖ Fazer o controlo dos resultados da determinação dos metais usando materiais de referência para caranguejo *Portunus pelagicus*;
- ❖ O estabelecimento de normas nacionais sobre metais incluindo limites ou valores máximos admissíveis de contaminantes para à saúde humana;
- ❖ A realização de monitorias quer sejam anuais ou semestrais das épocas chuvosa e seca por forma a obter dados periódicos a respeito da dinâmica dos contaminantes;
- ❖ O desenvolvimento de mais estudos e pesquisas da contaminação de metais usando outros bioindicadores de poluição ambiental como peixes ou camarões;
- ❖ A realização de pesquisas ao longo dos rios que desaguam no Estuário Espírito Santo para a identificação de outras fontes de contaminação; e
- ❖ A consciencialização das comunidades locais sobre os efeitos da contaminação por metais para a saúde humana e uso sustentável do estuário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alloway, B. J. (2013). *Heavy metals in soils- Trace and metalloids in soils and their bioavailability*. Third Edition. Springer. Reading, United Kingdom. pp. 11-493.
2. Andrade, D. F. & Rocha, M. S. (2016). *A toxicidade do Arsénio e sua natureza*. Revista Académica Oswaldo Cruz. São Paulo. 3: 102-111.
3. American Public Health Association (APHA). (2017). *Standard Method for the Examination of Water and Waste Water*. 23rd ed. American Public Health Association. Washington D.C.
4. Baki, M. A., Hossain, M. M., Akter, J., Quraishi, S. B., Haque Shojib, M. F., Atique Ullah, A. K. M. & Khan, M. F. (2018). *Concentration of heavy metals in seafood (fishes, shrimp, lobster and crabs) and human health assessment in Saint Martin Island, Bangladesh*. Elsevier Inc. Ecotoxicology and Environmental Safety. Bangladesh. 159: 153–163.
Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.035>
5. Bastos, I. C de O., Lovo, I. C. Estanilau, C. A. M. & Scoss. L. M (2006). *Utilização de Bioindicadores em diferentes hidrossistemas de uma indústria de papéis reciclados em Governador Valadares- MG*. Engenharia Sanitária e Ambiental. Minas Gerais, Brasil. 11(3), 203-211.
6. Bene, M. (1990). *Relação entre Avifauna no Estuário Espírito Santo*. Trabalho de Licenciatura, Faculdade de Ciências, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Eduardo Mondlane, Maputo.
7. Bordalo, A. O., Peret, A. C., Da Silva, A. C., Peret, A. M., De Souza, A. S. L., Ferreira, C. P.,...Santos, S. (2018). *Ecossistemas Aquáticos: tópicos especiais*. EDUFRA.: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). Belém, Brasil.
8. Bradl, H. B. (2005). *Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Press Remediation*. Volume 6. Elsevier. Interface Science and Technology. London.

9. Briffa, J., Sinagra, E. & Blundell, R. (2020). *Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans*. Heliyon. Malta. 6(9): e04691.
Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>.
10. Brouwer, P. (2010). *Theory of XRF: Getting acquainted with the principles*. 3rd edition. PANalytical B.V. The Netherlands.
11. Caulfield, L. E. & Black, R. E. (2004). *Zinc deficiency in Comparative Quantification of Health Risks*. WHO, World Health Organization. Geneva. 1: 257–280.
12. Clemente, K. J. E. Tosoc N. R. N., Soriano, C. J. M., Manalo, J. R., Padirogao, R. T., Pacis, H. J. M.,...Nacua, A. M. (2018). *Assessment of heavy metal concentration in the blue swimming crab Portunus pelagicus from Manila Bay, Philippines*. Advances in Environmental Sciences (AES Bioflux). Philippines. 10 (2): 63-67.
13. Chiarelli, R. & Roccheri, M. C. (2014). *Marine Invertebrates as Bioindicators of Heavy Metal Pollution*. Open Journal of Metal. Scientific Research Publishing Inc. Italy. 4: 93–106.
14. Debnath, B., Singh, W. & Manna, K. (2019). *Sources and toxicological effects of lead on human health*. Indian Journal of Medical Specialties. India. 10(2): 66 71.
Disponível em: https://doi.org/10.4103/injms.injms_30_18.
15. Du Plessis, A. (2015). *Assessment of Heavy Metal Concentration in Water and Sediment of Dams in Central Namibia and Bioaccumulation of Cooper in Locally Occuring Crabs and Fish*. Master's Thesis. University of Namibia. Windhoek.
16. Ferreira, R. J. S. (2001). *Determinação de Metais Traço em Sedimentos de Rios: Caso da Bacia do Baixo Itajai-açu*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianopolis.

17. Firat, Ö., Gök, G., Çoğun, H. Y., Yuzereroğlu, T. A. & Kargin, F. (2008). *Concentrations of Cr, Cd, Cu, Zn and Fe in crab Charybdis longicollis and shrimp Penaeus semisulcatus*. Environmental Monitoring and Assessment. Turkey. 147: 117–123.
18. Giblock, S. M. & Crain, D. (2013). *Fiddler Crabs (Uca pugilator) as Bioindicators of Environmental Health in Coastal Estuarine Communities of Beaufort, South Carolina*. Papers and Publications: Interdisciplinary Journal of Undergraduate Research. South Carolina. 2(1): 1–11.
Disponível em:
<http://digitalcommons.northgeorgia.edu/papersandpubs/vol2/iss1/135CnThis>.
19. Habte, G., Choi, J. Y., Nho, E. Y., Oh, S. Y., Khan, N., Choi, H., Park, K. S. & Kim, K. S. (2015). *Determination of toxic heavy metal levels in commonly consumed species of shrimp and shellfish using ICP-MS/OES*. Food Science and Biotechnology. KoSFoST and Springer. Korea. 24(1): 373–378.
20. Hou, X. & Jones, B. T. (2000). *Inductively Coupled Plasma/ Optical Emission Spectrometry*. Encyclopedia of Analytical Chemistry. R. A. Meyers (Ed). Chichester, England. pp. 9468-9485.
21. International Atomic Energy Agency (IAEA). (2005). *In situ applications of X ray fluorescence techniques: final report of a coordinated research project, 2000-2003*. IAEA. Viena, Austria.
22. Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B. & Beeregowda, K. N. (2014). *Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals*. Interdisciplinary Toxicology. India. 7(2): 60–72.
Disponível em: <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>.
23. Karam, Q., Guermazi, W., Subrahmanyam, M. N. V, Al-enezi, Y., Ali, M., Leignel, V. & Annabi-trabelsi, N. (2023). *Portunus pelagicus (Linnaeus, 1758) as a Sentinel Species to Assess Trace Metal Occurrence: A Case Study of Kuwait Waters (Northwestern Arabian Gulf)*. Toxics. Kuwait. 11(5): 1 - 19.

24. Liu, C. (2022). *Major Effects of Marine Pollution*. Journal of Aquaculture Research & Development. Beijing, China. 13(2): 1.
Disponível em: <https://doi.org/10.35841/2155-9546-22.13.672.Citation>.
25. Marmolejo-Rodriguez, A. J., Prego, R., Meyer- Willerer, A., Shumilin, E. & Cobelo-Garcia, A. (2007). *Total and labile metals in surface sediments of the tropical river-estuary system of Marabasco (Pacific coasts of México): influence of an iron mine*. Marine Pollution Bulletin. La Paz, Mexico. 55: 459-468.
26. Marsden, I. D. & Rainbow, P. S. (2004). *Does the accumulation of trace metals in crustaceans affect their ecology - The amphipod example?*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. New Zealand. 300(1-2): 373-408.
Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2003.12.009>.
27. Merfa, T. C. (2010). *Determinação De Metais Pesados No Caranguejo Comestível Ucides Cordatus (Crustacea: Decapoda)*. Trabalho de conclusão de curso (Ecologia). Universidade Estadual Paulista. Rio Claro.
28. Miller, J. N., Miller, J. C. (2005). *Statistics and Chemometrics for analytical chemistry*. 5 ed. Person Education Limited. Harlow, England.
29. Mitra, S., Chakraborty, A. J., Tareq, A. M., Emran, T. B., Nainu, F., Khusro, A.,... Simal-Gandara, J. (2022). *Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity*. Journal of King Saud University - Science. Saudi Arabia. 34(3): 1 - 21.
Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>.
30. Nemos África (2017). *Estudo de Impacto Ambiental do Projecto de Expansão da Capacidade do Terminal Graneleiro da Matola/STEMA*.
Disponível em: <https://www.nemos.pt/pt/publicacao/consultas-publicas-para-o-estudo-de-impacto-ambiental-do-projecto-de-expansao-da-capacidade-do-terminal-graneleiro-da-matola-stema/>
31. Odeku, K. O. & Paulos, B. M. (2017). *Prohibition of pollution of marine environments: challenges and prospects*. Environmental Economics. South Africa. 8(3): 127-136.

Disponível em: [https://doi.org/10.21511/ee.08\(3-1\).2017.05](https://doi.org/10.21511/ee.08(3-1).2017.05).

32. Olayinka-Olagunju, J. O., Dosumu, A. A., & Olatunji-Ojo, A. M. (2021). *Bioaccumulation of Heavy Metals in Pelagic and Benthic Fishes of Ogbese River, Ondo State, South-Western Nigeria*. Water, Air and Soil Pollution. Ondo State, Nigeria. 232(2): 1 - 19.

Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-021-04987-7>.

33. Olowu, R. A., Ayejuyo, O. O., Adejoro, A., Adewuyi, G. O., Osundia, M. O., Onwordi, C. T.,...Owolabi, M. S. (2010). *Determination of Heavy Metals in Crab and Prawn in Ojo Rivers Lagos, Nigeria*. E-Journal of Chemistry. Nigeria. 7(2): 526–530.

34. Rajeshkumar, S. & Li, X. (2018). *Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China*. Toxicology Reports. China. 5(January): 288–295.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.01.007>.

35. Ranjan, R., Muktha, M., Ghosh, S., Gopalakrishnan, A., Gopakumar, G. & Joseph, I. (2017). *Prioritized Species for Mariculture in India*. ICAR-CMFRI. Kochi, India.

36. Kochi. Ribeiro, M. A. C. (2013). *Contaminação do solo por metais pesados*. Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente. Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias. Lisboa.

37. Santos, E. S., Gama, E. M., França, R. S. , Souza, A. S., Matos, R. P. (2013). *Espectrometria de fluorescência de raios-x na determinação de espécies químicas*. Enciclopédia Biosfera. Centro Científico Conhecer. Goiânia. 9(17): 3413 - 3432.

38. Saulovic, D., Bioacanin, R. & Rodriguez, B. (2015). *Bioindicators in Human Environment*. University of Belgrade. Belgrade, Serbia. pp.140 -147.

39. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. & Crouch, R. S. (2003). *Fundamentos de química analítica*. Tradução da 8ª edição Norte-Americana. Editora Thomson. Rio de Janeiro.

40. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. & Crouch, R. S. (2006). *Fundamentos de química analítica*. Tradução da 8ª edição Norte-Americana. Editora Thomson. Rio de Janeiro.
41. United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA). (1989). *Saving Bays and Estuaries: A primer for establishing and managing estuary projects*. U.S. EPA, Office of Water. Washington, D.C.
42. United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA). (2006). *Voluntary Estuary Monitoring Manual Chapter 2: Overview, covering the science, the problems, and the solution*. 2nd Edition. U.S. EPA. Washington, D.C. pp. 1-17.
Disponível em: <http://www.epa.gov/owow/estuaries/monitor/>.
43. Yap, E. E., Mesa, S., Napata, R. & Ledesma, A. B. (2020). *The Philippines' Blue Swimming Crab (Portunus pelagicus) Fishery Root Cause Analysis Report*. United Nations Development Programme and Bureau of Fisheries and Aquatic Resources. Philippines. pp. 1 - 55.

Disponível em:
https://www.ph.undp.org/content/philippines/en/home/library/environment_energy/the-philippines_-blue-swimming-crab--portunus-pelagicus--fishery.html.
44. Yousif, R., Choudhary, M. I., Ahmed, S. & Ahmed, Q. (2021). *Review: Bioaccumulation of heavy metals in fish and other aquatic organisms from Karachi Coast, Pakistan*. Nusantara Bioscience. Karachi, Pakistan. 13(1): 73–84.
Disponível em: <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n130111>.

ANEXOS

Anexo 1. Equipamentos usados para análises laboratoriais.

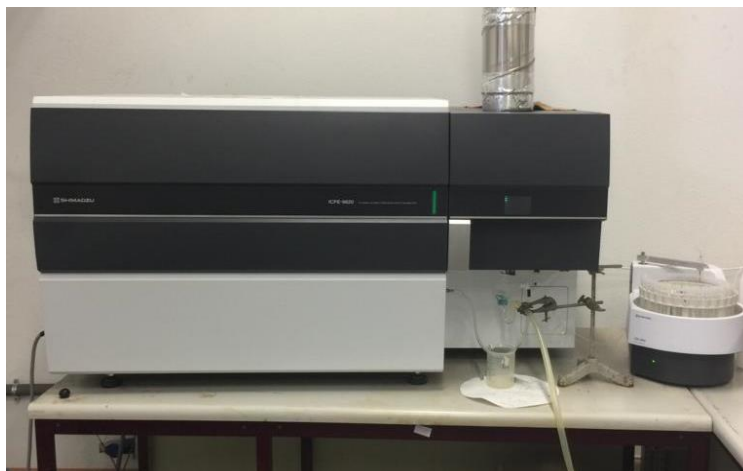


Figura A 1. Imagem do Espectrómetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado Modelo 9800 da Shimadzu



Figura A 2. Imagem do Espectrómetro de fluorescência de Raios-X ED-7000 da Shimadzu.



Figura A 3. Balança Analítica

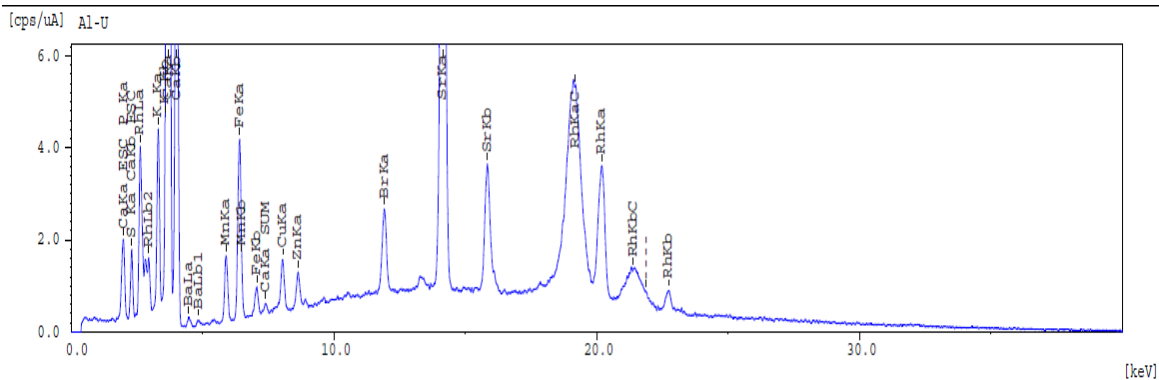


Figura A 7. Espectro de raios-X. Amostra C.4C

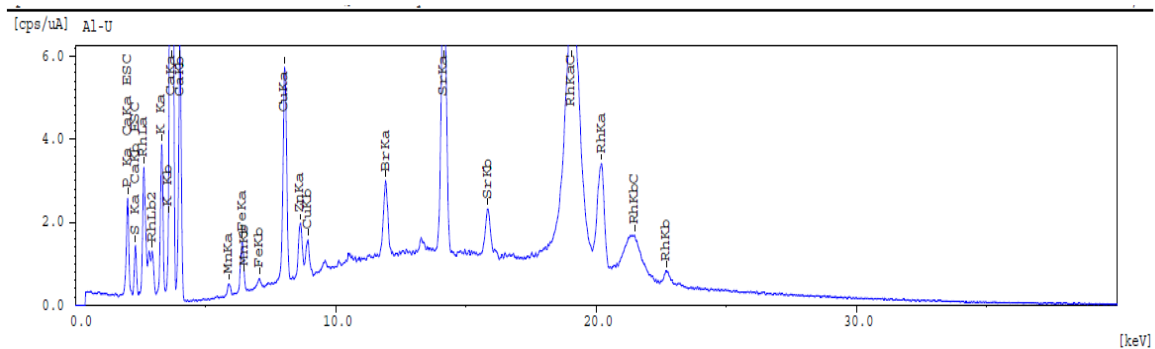


Figura A 8. Espectro de raios-X. Amostra C.4H

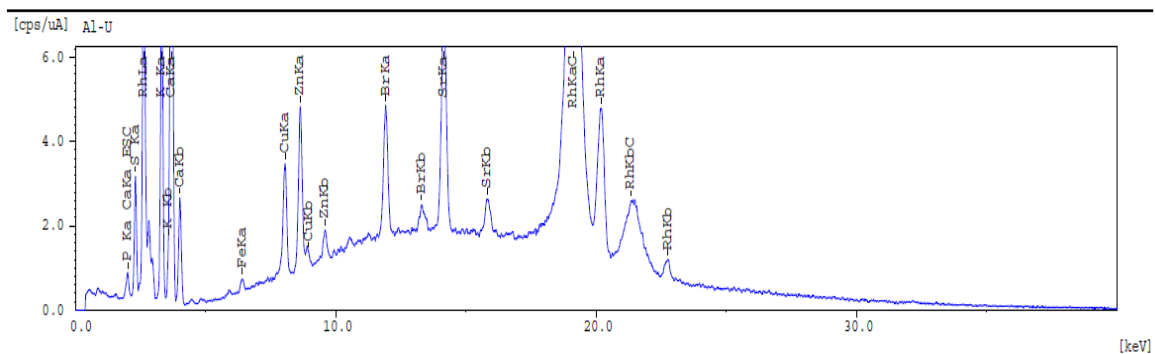


Figura A 9. Espectro de raios-X. Amostra C.4M

ANEXO 3. Curvas de calibração normal obtidas por ICP-OES

As soluções padrões foram preparadas a partir de uma solução multi-elemento de 100 mg/L. Pipetando 0,0, 0,5, 1,0, 1,5, 2 e 2,5 mL da solução padrão e diluiu-se para um volume final de 50 mL em balões volumétricos de 50 ml.

O branco do método foi preparado com 50 mL H₂O Mili Q em um balão volumétrico e foi adicionado 0,5 mL de ácido nítrico (HNO₃) 65-70 % W/W usado na digestão dos caranguejos.

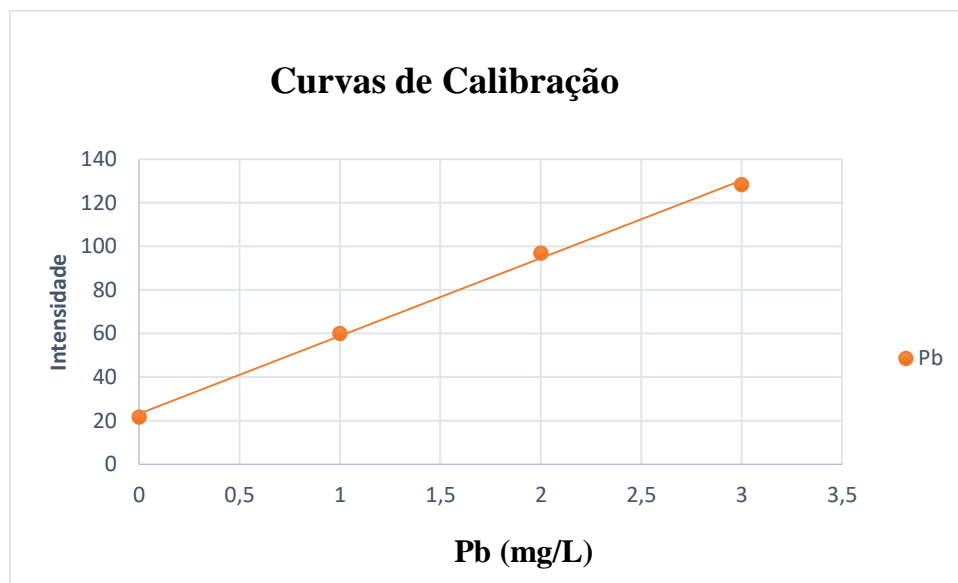


Figura A 10. Curva de calibração Pb.

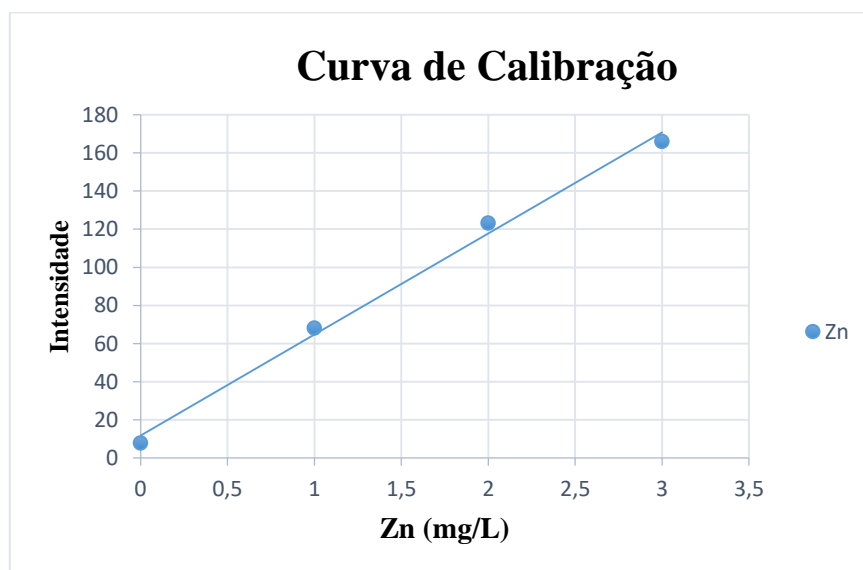


Figura A 11. Curva de calibração Zn.

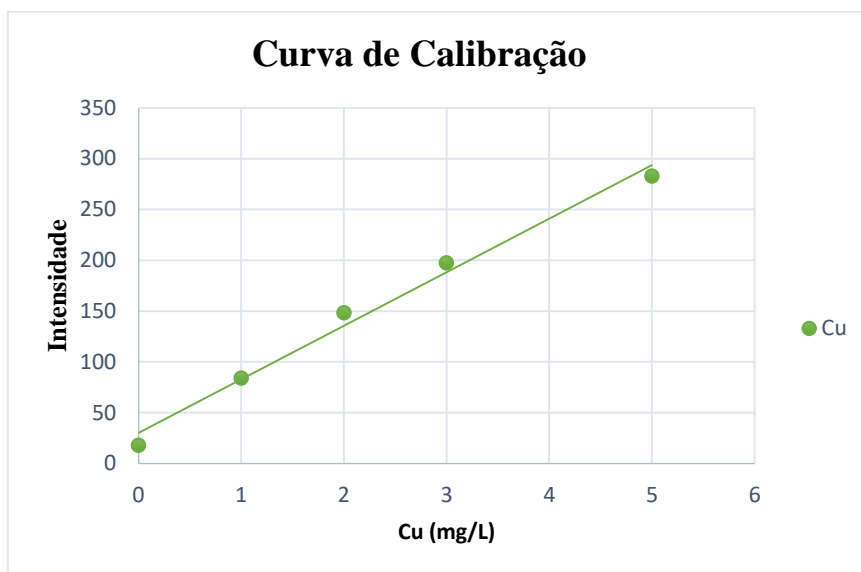


Figura A 12. Curva de calibração Cu.

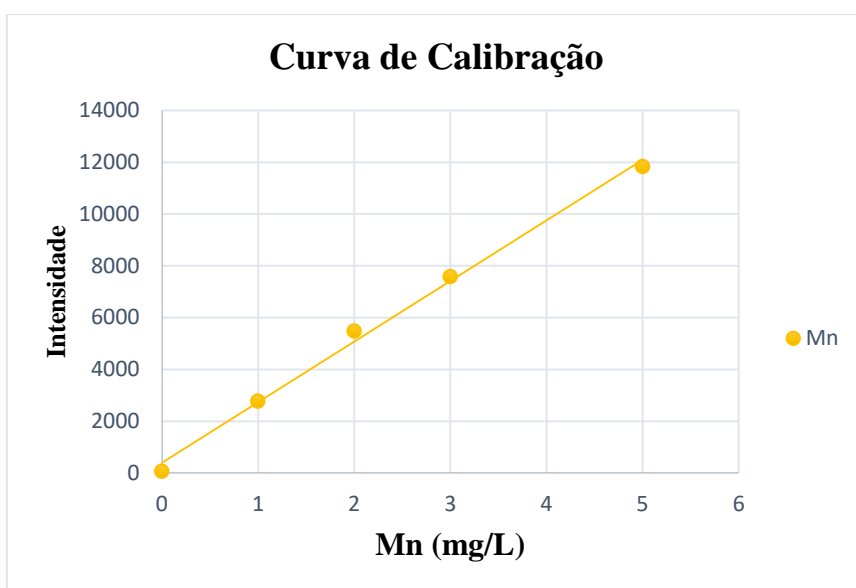


Figura A 13. Curva de calibração Mn.

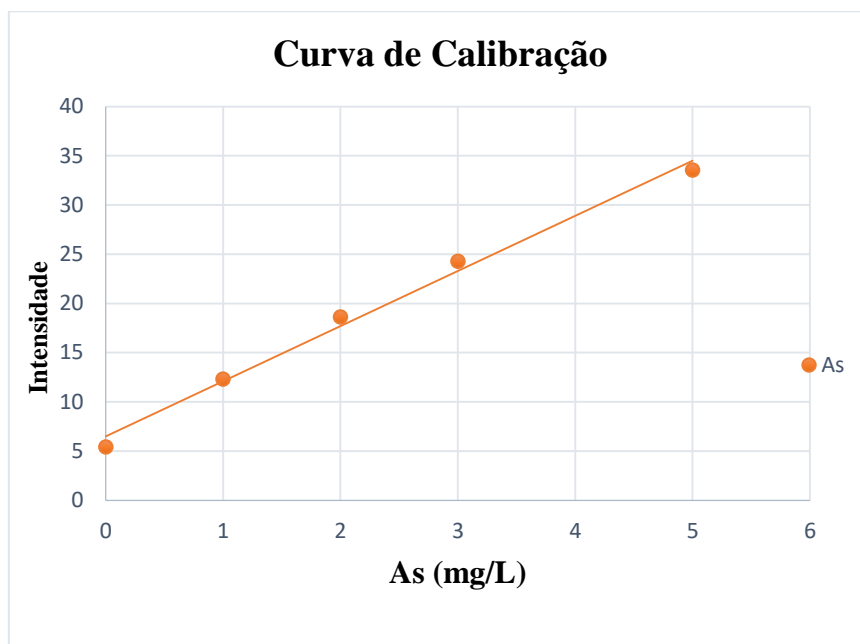


Figura A 14. Curva de calibração As.

Equações das rectas de calibração normal

Tabela A 1. Equações das rectas de calibração normal

Elemento	Equação	R ²
As	$y = 5,5995x + 6,5016$	0,9916
Cu	$y = 52,691x + 30,091$	0,9876
Mn	$y = 2338,9x + 394,38$	0,9955
Pb	$y = 35,672x + 23,171$	0,998
Zn	$y = 52,958x + 11,847$	0,9944

ANEXO 4. Dados Brutos

Tabela A 2. Intensidades das amostras de caranguejos analisadas por ICP-OES

Elemento	Intensidades das amostras de caranguejos					
	C.1	C.2	C.3	C.4C	C.4M	C.4H
As	25,52572	18,06166	15,16796	27,74177	12,00367	18,14855
Cu	170,0159	172,3581	119,7219	118,8485	69,63077	325,5513
Mn	3084,933	791,7058	394,6475	3876,111	237,9146	641,1446
Pb	77,70216	67,65206	56,57372	67,63489	36,85221	62,24722
Zn	191,0699	49,23442	57,06429	48,99662	44,81314	41,47435